prof. dr Slobodan Janković

DIZAJN ISTRAŽIVANJA

Kragujevac
2024.

DIZAJN ISTRAŽIVANJA

Autor: prof. dr Slobodan M. Janković,
Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu

Recenzenti:
Prof. Dr Nataša Bogavac Stanojević, Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu
Prof. Dr Dušanka Krajnović, Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu

Glavni urednik: prof. dr Slobodan M. Janković

Lektor i korektor: Nera Janković, diplomirani fiolog – romanista

Tehnički urednici: Miloš Stojanović i Slobodan M. Janković

Dizajn korica: Slobodan M. Janković

Izdavač:
Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu

Štampa: Kragujevac : Grafopromet

CIP: Каталогизација у публикацији Народна библиотека Србије, Београд
001.891:[57+61
ЈАНКОВИЋ, Слободан, 1961-
Dizajn istraživanja / Slobodan Janković. - Kragujevac : Univerzitet, Fakultet medicinskih nauka, 2023 (Kragujevac : Grafopromet). - 163 str. : graf. prikazi ; 25 cm

Tiraž 500. - Bibliografija: str. 158-163.
ISBN 978-86-7760-216-1
a) Биомедицина -- Научноистраживачки рад -- Методологија
COBISS.SR-ID 131207433

Odlukom Komisije za izdavačku delatnost Fakulteta medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu, od 22.11.2023. broj 06-12979/5, ova knjiga je odobrena za korišćenje kao udžbenik za osnovnu i postdiplomsku nastavu.

SADRŽAJ

UVOD....1
1.STRUKTURA DIZAJNA (PLANA) ISTRAŽIVANJA....3
2. ETIČKA PITANJA....27
3.KVANTITATIVNI I KVALITATIVNI PRISTUP ISTRAŽIVANJU....35
4.EKSPERIMENTALNE KVANTITATIVNE STUDIJE NA BIOLOŠKOM ILI DRUGOM MATERIJALU IN VITRO....37
5.EKSPERIMENTALNE KVANTITATIVNE STUDIJE NA ŽIVOTINJAMA IN VIVO....43
6. EKSPERIMENTALNE KVANTITATIVNE STUDIJE NA LJUDIMA IN VIVO - KLINIČKE EKSPERIMENTALNE STUDIJE....56
7.KVAZI-EKSPERIMENTALNE STUDIJE....70
8.META-ANALIZA....72
9.KOHORTNE STUDIJE....79
10. STUDIJE SLUČAJ-KONTROLA I SLUČAJ-KOHORTA (engl. case-control and case-cohort)....83
11.SISTEMATSKA GREŠKA KOD KOHORTNIH I STUDIJA SLUČAJ – KONTROLA....87
12. UZROČNOST KOD OPSERVACIONIH STUDIJA....89
13. OPSERVACIONE STUDIJE NA SEKUNDARNIM PODACIMA....91
14. STUDIJE PRESEKA....94
15.SERIJE SLUČAJEVA....97
16.PRIKAZI SLUČAJEVA....99
17.IZRADA STRUKTURIRANIH UPITNIKA....101
18.FAKTORSKA ANALIZA UPITNIKA....107
19.PREVOĐENJE, PRILAGOĐAVANJE, ISPITIVANJE POUZDANOSTI I PUNOVAŽNOSTI UPITNIKA....112
20.INTERVJU KAO KVALITATIVNI METOD ISTRAŽIVANJA....119
21.FOKUS GRUPA....122
22.POSMATRANJE PONAŠANJA LJUDI....124
23.ANALIZA RAZGOVORA....126
24.ANALIZA KVALITATIVNIH PODATAKA....128
25.METOD NOMINALNE GRUPE....133
26.DELFI TEHNIKA....137
27.STUDIJE SLUČAJA....137
28.STUDIJE TAČNOSTI DIJAGNOSTIČKOG TESTA....141

29.STUDIJE TROŠKOVA BOLESTI.....146
30.KAKO NAPISATI RUKOPIS ZA ČASOPIS SA REZULTATIMA SVOG ISTRAŽIVANJA ?.....150
31.GDE PUBLIKOVATI RUKOPIS PRIPREMLJEN ZA ŠTAMPU?.....154
32. LITERATURA.....158

PREDGOVOR

Ova sažeta knjiga ima za cilj da uvede čitaoce koji do sada nisu imali iskustva sa istraživanjima u osnovne metodološke principe njihovog planiranja i sprovođenja. Ona je namenjena pre svega studentima doktorskih studija naših univerziteta, a zatim i svim ostalima koji žele da se upuste u čarobni svet istraživanja. Pri pisanju knjige trudio sam se da koristim što jednostavniji jezik i domaću terminologiju gde god je to bilo moguće, kao i da ukratko definišem najvažnije pojmove za koje sam pretpostavljao da su za čitaoce novi i nepoznati. Koliko sam u tome uspeo, reći će sami čitaoci, a meni ostaje nada da će im ova knjiga biti od koristi na njihovom putu ka samostalnosti u naučno-istraživačkom radu. Najdublje sam uveren da prosperitet svake zajednice, pa i naše u Republici Srbiji, u najvećoj meri zavisi od ljudi koji umeju da sistematski koriste naučni pristup u rešavanju sve ozbiljnijih problema sa kojima se suočavamo.

Slobodan Janković

UVOD

Reč dizajn označava **precizan plan** po kome će se sprovesti neka aktivnost ili stvoriti neki predmet. Dizajn istraživanja podrazumeva dovoljno detaljan plan po kome će se sprovesti istraživanje i doći do novog saznanja. Najvažnija karakteristika dobrog dizajna istraživanja je ***objektivnost***, tj. plan je tako napravljen da onemogućava voljni uticaj istraživača na rezultate istraživanja. Druga, ne mnogo manje važna karakteristika dobrog dizajna istraživanja je dovoljna ***snaga***, tj. dovoljno velika verovatnoća da se može otkriti fenomen za kojim tragamo. Veliki problem savremene nauke jesu istraživanja koja nisu bila objektivna (omogućila su uticaj volje istraživača na rezultate – engleski naziv ove pojave je "bias") ili nisu imala dovoljnu snagu, a ipak nađu put da budu publikovana u naučnim časopisima. Netačni rezultati takvih istraživanja potom stvaraju zbrku i navode nove istraživače na pogrešan put, što sve rezultuje velikim gubitkom materijalnih resursa i ljudskog rada.

Još jedna važna osobina dobrog dizajna istraživanja je ***inovativnost***, što znači da će planirano istraživanje doneti potpuno novo saznanje o nekom pitanju, koje niko do tada nije istraživao, ili su rezultati prethodnih istraživanja u konfliktu. Inovativnost se postiže postavljanjem potpuno novog cilja istraživanja na osnovu detaljnog poznavanja rezultata svih prethodnih istraživanja pojave koja je predmet nove studije. Dakle, budući istraživač mora biti dobro i detaljno upoznat sa svim što je do tada poznato, a zatim dovoljno kreativan da postavi novi cilj, ili kako se to često kaže, istraživačko pitanje.

Najzad, dizajn je dobar ako je istraživanje ***izvodljivo*** u raspoloživom vremenu, prostoru i sa dostupnim resursima (dovoljno subjekata istraživanja,

dovoljno opreme i potrošnog materijala, dovoljno znanja istraživača). I najbolji plan istraživanja se neće moći realizovati ako nedostaje neki od navedenih uslova. Da li ćemo moći da nabavimo dovoljan broj eksperimentalnih životinja sa određenim karakterstikama, da li će dovoljno ispitanika pristati da učestvuje u našem istraživanju, da li će nam uprave zdravstvenih ustanova dozvoliti pristup pacijentima? Da li smo obezbedili osobu koja će obaviti merenja u našoj studiji? Šta će se dogoditi ako nam vlasnici istraživačke opreme ne dozvole pristup, ili ako ne nabavimo sredstva za potrošni materijal? Na sva navedena pitanja moramo imati jasan odgovor kada pripremamo dizajn istraživanja: ukoliko nije tako, najbolje je odmah odustati, i promeniti temu i kompletan dizajn. Odustati na vreme od neizvodljivog istraživanja je mudar postupak. Ne treba žaliti za utrošenim radom i vremenom u pripremi dizajna od koga smo odustali - izgubićemo daleko više ako nastavimo da se bavimo nečim što nikada neće moći da se ostvari.

1 STRUKTURA DIZAJNA (PLANA) ISTRAŽIVANJA

TEMA

Bez obzira na cilj, oblast ili metodologiju istraživanja, plan uvek sadrži iste osnovne elemente, tj. ima istu strukturu. Pre svega, treba postaviti cilj istraživanja, koji formulišemo kao **TEMU**, odnosno naslov. Tema će najčešće imati tri sastavna dela: UZROK, ISHOD (POSLEDICA) i POPULACIJU na kojoj se sprovodi istraživanje. Razlog za ovakvu strukturu teme leži u činjenici da mi obično tragamo za uzročno-posledičnom vezom, tj. pokušavamo da utvrdimo koji faktor utiče na određenu pojavu koja nas interesuje u opštoj ili nekoj specifičnoj populaciji. Na primer, može nas interesovati da li boja očiju (UZROK) utiče na najviši stepen stečenog obrazovanja tokom života (ISHOD) kod stanovnika Srbije (POPULACIJA). U tom slučaju tema bi mogla glasiti: "Ispitivanje uticaja BOJE OČIJU na NAJVIŠI STEPEN OBRAZOVANJA stečen tokom života kod STANOVNIKA SRBIJE". Studije koje se bave uzročno-posledičnim vezama nazivamo ***analitičkim***.

Ukoliko uzrok postoji samo u dva oblika, mi ćemo onda u našem istraživanju zapravo upoređivati efekat svakog od pojedinačnih oblika na ishod. Tada se u temi umesto jednog uzroka pojavljuju njegova dva sastavna dela: glavni faktor i komparator. Tema tada treba da ima 4 dela: GLAVNI FAKTOR, KOMPARATOR, ISHOD i POPULACIJU. Ako uzmemo uslovno da postoje samo dve boje očiju, svetla i tamna, tema iz našeg prethodnog primera bi

mogla da glasi: "Upoređenje uticaja svetle (GLAVNI FAKTOR) i tamne (KOMPARATOR) boje očiju na najviši stepen obrazovanja stečen tokom života (ISHOD) kod stanovnika Srbije (POPULACIJA).

Ponekad naše interesovanje neće obuhvatiti ispitivanje uzročno-posledične veze, već samo utvrđivanje da li ISHOD postoji u populaciji, i kolika je njegova učestalost ili intenzitet. Tada UZROK ne postoji, i neće ga biti u temi. U našem primeru bi takva tema mogla da glasi: "Kako je najviši stepen obrazovanja stečen tokom života distribuiran (ISHOD) u stanovništvu Srbije (POPULACIJA)" (ili jednostavnije rečeno, koji procenat stanovnika Srbije ima završenu najviše osnovnu školu, srednju školu, fakultet, magistraturu ili doktorat). Studije koje ne ispituju uzročno posledičnu vezu nazivamo ***deskriptivnim***.

Postavljanje teme je ključni korak u izradi dizajna istraživanja. Kao što je već pomenuto ranije, tema mora biti inovativna i izvodljiva. Kako dolazimo do dobre teme? Za one koji su već zaposleni i aktivno rade, najbolji put je da razmotre probleme u praksi koje su uočili, i koji se do sada nisu adekvatno rešavali. Takvi problemi se obično ne rešavaju zato što se o njima, njihovim uzrocima ili mogućnostima za otklanjanje malo zna. Treba samo povesti računa da slabo poznavanje i rešavanje problema u praksi nije možda specifičnost Srbije, tj. da nije posledica neobaveštenosti, neznanja ili nemara naših ljudi. U ovom poslednjem slučaju, tema koju bi postavili će dati odgovor koji nije doprinos znanju ljudske rase uopšte, već poznavanju slabosti organizacije društva u Srbiji, iz čega druge sredine ne mogu mnogo naučiti. Rezultat istraživanja treba da ima ***univerzalni značaj***, tj. makar minimalnu primenjivost u svim društvima; u protivnom ne možemo govoriti o naučnom saznanju, već samo o utvrđivanju pojedinačnih činjenica. Na primer, ako istraživanjem pokažemo da je u Srbiji smrtnost pasa lutalica velika i veća nego u drugim zemljama, to ne znači mnogo nikome. Međutim, ako pokažemo da je najčešći uzrok smrti gaženje motornim vozilom, to može i drugim sredinama poslužiti

da ispitaju bezbednost svojih saobraćajnica i planiraju najracionalnije metode poboljšanja bezbednosti.

Drugi način dolaska do dobre teme je temeljito čitanje publikovanih naučnih studija iz oblasti koja nas zanima. Kada se udubimo u određenu oblast i shvatimo najvažnije uzročno-posledične veze, brzo će nam postati jasno šta još u toj oblasti nije poznato, pa će nam se moguće teme same nametnuti. Međutim, ovde treba biti oprezan. Kada čitamo naučnu literaturu treba da ovladamo veštinom prepoznavanja pseudonaučnih publikacija (publikacije sa tvrdnjama koje nisu zasnovane na istraživanju, ali koje se prikazuju kao naučne činjenice) i publikacija čijim rezultatima se ne može verovati jer metodologija istraživanja nije bila ispravna. Takve publikacije treba odmah odbaciti i koncentrisati se samo na prave naučne radove, sa validnom metodologijom. Ovde se mora reći da istraživačima-početnicima nije lako da ovladaju veštinom "odvajanja žita od kukolja", pa im tu mogu biti od velike koristi mentori i dobronamerni iskusni istraživači.

Pošto su oba načina dolaska do teme mukotrpna i zahtevaju vreme, mnogi mladi istraživači pribegavaju "prečici", tj. traže već gotovu temu od iskusnog mentora ili istraživačke grupe koja ima puno uspeha u objavljivanju svojih rezultata. To nekada uspe, a nekada ne, ali uvek ima jednu negativnu posledicu po mlade istraživače: ne osposobe se za samostalno planiranje istraživanja od početka do kraja, i ne razvijaju kritičko mišljenje, tako da mogu nastaviti da greše tamo gde je grešio njihov mentor ili istraživačka grupa kojoj su se priključili. Sam postaviti svoju temu istraživanja i napraviti kompletan dizajn je nezamenljivo iskustvo koje daje plodove tokom čitave istraživačke karijere.

IZBOR METODA (VRSTE) ISTRAŽIVANJA

Kada smo postavili (izabrali) temu, treba da odlučimo koji metod istraživanja ćemo primeniti. Mada se ista tema može istraživati pomoću više metoda, obično je jedan od njih najpogodniji za određenu temu, tj. do rezultata se može doći najbrže i sa najvećom pouzdanošću. U razmišljanjima o metodu treba poći od najšire podele, a zatim se postepeno "spuštati" do konkretnog metoda, razmatrajući usput prednosti i mane svih ostalih metoda.

Najpre treba odlučiti da li će se u istraživanju koristiti ***eksperimentalni***,***opservacioni*** ili ***teorijski*** metod. Ovo je osnovna podela, koja se zasniva na različitom pristupu populaciji koju istražujemo (populaciju ovde shvatamo u najširem značenju, kao populaciju ljudi, životinja, biljaka, ili njihovih delova). Kod ***eksperimentalnih metoda*** mi primenjujemo neku intervenciju na populaciji koja je predmet istraživanja samo radi samog istraživanja, a zatim pratimo promene koje nastaju kao posledica te intervencije. Kod ***opservacionih metoda*** sa populacijom se postupa na isti način kao i izvan studije, a mi kao istraživači samo beležimo sve što se sa populacijom događa. Najzad, kod ***teorijskih metoda*** pokušavamo da objasnimo ono što se događa ili će se tek dogoditi u populaciji, koristeći postavljanje verbalnih ili matematičkih teorija i/ili modela.

Suština eksperimentalnih metoda istraživanja je u izdvajanju jednog nezavisnog faktora (varijable), njegovoj kontrolisanoj primeni i praćenju intenziteta efekta (sinonimi: ishod, zavisna varijabla) na populaciji koja se istražuje. Svi drugi faktori (nezavisne i zbunjujuće varijable) koji mogu uticati na efekat (ishod, zavisnu varijablu) se strogo kontrolišu kroz postavljanje eksperimentalnih uslova ili kroz isključivanje pojedinih subjekata istraživanja, kako bi se njihov uticaj eliminisao. Dakle, u eksperimentalnim studijama su ispitanici jako selekcionisani, što nekada može stvoriti problem nedovoljnog broja ispitanika sa traženim karakteristikama koji su dostupni istraživačima.

S druge strane, kod opservacionih metoda mi se trudimo da osim glavne nezavisne varijable, čiji uticaj na ishod nas najviše interesuje, zabeležimo sve ostale nezavisne ili zbunjujuće faktore (varijable) koji postoje kod ispitanika, kako bismo kasnije u obradi rezultata statističkim metodama isključili njihov uticaj na ishod, i razumeli kako zaista glavna nezavisna varijabla deluje na ishod. Dakle, kod opservacionih studija ispitanici nisu jako selekcionisani, ali zato moramo uzeti u obzir sve moguće faktore koji imaju bilo kakav uticaj na ishod, tj. na zavisnu varijablu.

U teorijskim studijama prvo konstruišemo "teoriju" koja objašnjava određene uzročno-posledične veze u vidu nekog modela tj. sistema, a zatim postupkom validacije proveravamo da li rezultati modela adekvatno opisuju stvarnost. Validacija ima više aspekata: konceptualna provera, provera ulaznih podataka u teoriju ili model, kontrola kalkulacija i upoređenje rezultata teorije/modela sa rezultatima neke druge metode istraživanja iste teme. ***Konceptualnu proveru*** treba da obavi nezavisan tim stručnjaka za oblast kojom se bavi teorija/model, koji utvrđuje da li su postavke i struktura teorije/modela u skladu sa dotadašnjim konceptima u toj oblasti. Na primer, ako se model bavi predviđanjem ishoda lečenja kohorte pacijenata sa HOBP-om, proverava se da li su u obzir uzete sve najsavremenije metode lečenja i da li se uvode onim redosledom kako to savetuju vodiči dobre prakse, da li spektar težine bolesti virtuelne kohorte u modelu odgovara epidemiološkim podacima, itd. Konceptualna validacija je izuzetno značajna, jer ako u postavci teorije/modela nedostaje makar jedan suštinski koncept, teorija ili model će biti neupotrebljivi, ma kako detaljno i metodološki precizno bili nadalje urađeni. ***Provera ulaznih podataka i premisa*** na kojima počivaju teorija ili model obuhvata proveru tačnosti i kvaliteta referenci iz kojih se „izvlače" ulazni podaci i premise, kao i ispitivanje pojave tzv. „selekcione sklonosti", tj. namernog izostavljanja ključnih referenci koje daju bitno drugačije podatke od onih koji su uzeti kao ulazni

za teoriju ili model. Kao i kod prethodnog vida validacije, proveru ulaznih podataka i premisa treba da obavlja jedna ili više osoba koje su *nezavisne* od istraživača.

Kontrolu kalkulacija modela takođe sprovode osobe nezavisne od istraživača, koje proveravaju matematičke postavke modela, tačnost matematičkih izraza i formula, tačnost algoritama za izračunavanje kao i osetljivost rezultata kakulacije na promene ulaznih parametara (tzv. analiza senzitivnosti modela). U okviru analize senzitivnosti vrednosti ulaznih parametara modela se obično variraju za ± 50%, a zatim se prati u kojoj meri će varirati rezultat (zaključak) modela. Najzad, ***upoređenje rezultata teorije/modela sa rezultatima neke druge metode istraživanja*** iste teme sprovode sami istraživači, koji treba da dokažu da njihov model predviđa rezultate koji ne odstupaju mnogo od rezultata druge metode. Na primer, recimo da naš model predviđa da će opadanje populacije u Srbiji ići po stopi od 1% godišnje u narednih 10 godina. Ako odredimo reprezentativni uzorak populacije Srbije od oko 3000 osoba, koji ima istu starosnu strukturu kao i cela populacija, i ako ispratimo pomenuti uzorak godinu dana, možemo direktno utvrditi koliki će biti godišnji mortalitet i uporediti ga sa predviđanjem našeg modela.

O daljim podelama eksperimentalnih, opservacionih i teorijskih metoda istraživanja, kao i o karakteristikama svih pojedinačnih metoda će biti reči u narednim poglavljima ove knjige.

POPULACIJA KOJA SE ISTRAŽUJE

Kada planiramo istraživanje moramo se opredeliti na kome ćemo ga sprovoditi, tj. koja populacija će biti predmet istraživanja. Bez obzira da li se radi o životinjama, biljkama, mineralima, ćelijama ili ljudskim bićima, nas će interesovati samo jedinke odnosno primerci sa određenim karakteristikama, tj. neka populacija koja je uža od opšte populacije te vrste. Da bismo definisali

populaciju koja će biti predmet našeg istraživanja, moramo da stavimo na papir njene ***karakteristike***. Karakteristike podrazumevaju da neke osobine postoje kod svih članova populacije, a da nekih nema. Na primer, hoćemo da ispitamo otpornost stabala jabuke na novu vrstu insekticida, pa želimo da to budu stabla starija od 2 i mlađa od 6 godina, vrste poznate pod nazivom "kolačara", visine do 3 metra, bez virusnih oboljenja lista i gljivičnih oboljenja stabala. Dakle, karakteristike naše populacije ćemo opisati kao "***kriterijume za uključenje***" i "***kriterijume za isključenje***" iz studije. Kriterijumi za uključenje u našem primeru će biti: (1) jabuka vrste "kolačara" i (2) stabla jabuke starosti između 2 i 6 godina. Kriterijumi za isključenje bi bili: (1)visina stabala preko 3 metra; (2) stabla sa virusnim oboljenjem lista, i (3) stabla zahvaćena gljivičnom infekcijom. Dakle, populaciju koju želimo istraživati definišemo kroz navođenje kriterijuma za uključivanje u studiju i kriterijuma za isključivanje iz studije.

UZORAK

Pošto ćemo retko biti u prilici da istražujemo celu populaciju koja nas zanima, pre svega zbog velike brojnosti jedinki, potrebno je da iz nje izdvojimo uzorak na kome ćemo sprovesti istraživanje. Da bi istraživanje na uzorku odrazilo stvarno stanje u celoj populaciji, uzorak mora da ispuni dva uslova: (1) da bude reprezentativan, i (2) da bude izdvojen iz populacije po principu slučajnosti. Tek ako su ova dva uslova ispunjena možemo zaključke našeg istraživanja na uzorku generalizovati na celu populaciju.

Reprezentativnost se obezbeđuje time što će uzorak imati *strukturu* sličnu strukturi populacije i time što će biti *dovoljno veliki* da se pojave koje se javljaju u populaciji mogu uočiti i prilikom ispitivanja uzorka. ***Sličnost strukture*** uzorka sa strukturom populacije podrazumeva da zastupljenost bitnih karakteristika članova populacije bude slična. Na primer, najvažnije karakteri-

stike članova populacije su svakako pol i starost, ali zatim i stadijum bolesti, stepen obrazovanja, nacionalnost, izloženost nekom spoljnjem faktoru i drugo. Dakle, ako uzimamo reprezentativan uzorak neke humane populacije, pre svega moramo da obezbedimo da odnos polova u uzorku i odnos starosnih grupa odgovaraju odnosima u populaciji (na primer, ako je u populaciji odnos žena i muškaraca 55:45, takav odnos treba da bude i u uzorku). Isto treba obezbediti i za starost i druge bitne karakteristike. Kako praktično obezbeđujemo sličnu strukturu uzorka i populacije? Služimo se metodom stratifikacije, tj. unapred odredimo broj jedinki u uzorku sa određenom karakteristikom, koje ćemo kasnije izabrati iz dela populacije (stratuma) koji ima tu karakteristiku. U našem primeru sa polom to znači da ćemo u uzorku od npr. 1000 osoba limitirati broj žena na 550, i broj muškaraca na 450 (zbog odnosa 55:45 u populaciji). Kada kasnije biramo žene koje će ući u uzorak, to ćemo činiti po nekom slučajnom principu sve dok ne popunimo brojku 550. Isto ćemo uraditi i sa muškarcima, s tim što će ovde uključivanje jedinki biti obustavljeno kada se broj izabranih popne do 450. Pošto često ima više karakteristika populacije koje treba da budu zastupljene u uzorku istovremeno (npr. i pol i starost), onda ćemo limitirati broj jedinki koje imaju određenu kombinaciju. Recimo da u malopre pomenutom uzorku treba obezbediti da bude 80% osoba starosti od 20-40 godina i 20% osoba starosti od 40-60 godina. Onda ćemo imati 4 dela uzorka sa tačno određenim brojem jedinki: 550*0.8 = 440 žena starih od 20-40 godina, 110 žena starih od 40-60 godina, 450*0.8 = 460 muškaraca starih od 20-40 godina i 90 muškaraca starih od 40-60 godina. Ako postoji i treća bitna karakteristika koja treba biti zastupljena u uzorku kao i u populaciji, onda bismo postojeće podgrupe dalje delili.

Dovoljna veličina uzorka se obezbeđuje na osnovu verovatnoće da ćemo određenu karakteristiku članova populacije (ishod ili nezavisnu varijablu, prema tome kako smo postavili istraživanje) koju tražimo uspeti da

nađemo u uzorku. Ukoliko je karakteristika koja nas interesuje ***kontinualna varijabla*** (tj. može imati bilo koju vrednost na nekoj skali), koja postoji kod svih članova populacije (npr. telesna težina), verovatnoća da ćemo utvrditi u uzorku srednju vrednost te varijable koja je slična kao u populaciji će biti utoliko veća ukoliko je varijabilnost karakteristike u populaciji manja, a veličina uzorka veća. Ako sada odredimo granice poverenja u kojima bi trebalo da se nađe srednja vrednost varijable u populaciji, fiksiramo verovatnoću da će srednja vrednost varijable u populaciji biti u okviru granica poverenja (obično se uzima 95 ili 99%), i uzmemo pretpostavljenu ili poznatu standardnu devijaciju varijable u populaciji, možemo izračunati koja veličina uzorka nam je potrebna. Dakle, ako se granice poverenja izračunavaju kao ± 1.96 (za verovatnoću 95%, a za verovatnoću od 99% treba staviti 2.58)*standardna devijacija distribucije srednjih vrednosti uzoraka (koja je ustvari jednaka standardnoj devijaciji u populaciji podeljenoj sa kvadratnim korenom veličine uzorka), onda iz te formule možemo izračunati veličinu uzorka.

$$GP = 2 \cdot 1.96\,(ili\ 2.58) \cdot \frac{SD}{\sqrt{N}}$$

Značenje simbola iz gornje formule: N – broj jedinki u uzorku; SD – standardna devijacija u populaciji, GP – granice poverenja koje mi određujemo. Broj 2 je unet u formulu jer se granice poverenja nalaze i ispod i iznad srednje vrednosti varijable u uzorku.

Iz prethodne formule sledi:

$$N = \left(\frac{2 \cdot 1.96}{GP} \cdot SD \right)^2$$

U gornjoj formuli je lako izabrati vrednost 1.96 ili 2.58 – treba samo da se odlučimo hoćemo li veću ili manju verovatnoću da će se srednja vrednost varijable u populaciji naći u definisanim granicama poverenja. Teže je odrediti vrednosti SD i GP. Ako postoje neki prethodni podaci o standardnoj devijaciji

varijable u populaciji, onda je lako: uzećemo podatak iz literature o SD, a GP možemo odrediti na osnovu slobodne procene koliko će nam rezultati biti pouzdani (što stavimo manje granice poverenja, preciznost naših rezultata će biti veća, i obrnuto). Ako pak nemamo nikakav prethodni podatak o SD u populaciji, moramo sami slobodno proceniti i SD na osnovu naših iskustava i studija sa drugim, ali sličnim, varijablama. Logiku na osnovu koje smo procenili vrednosti SD i GP treba obavezno objasniti u rukopisu kojim ćemo saopštiti naše rezultate.

Na primer, ako želimo da odredimo prosečnu visinu stanovnika Beograda, a iz prethodnih studija znamo da je standardna devijacija merenja visine oko 10 cm, zatim izaberemo verovatnoću da će prosečna visina biti u okviru 99% vrednosti visine stanovnika Beograda i odredimo relativno uske granice poverenja od ± 3 cm, onda nam treba uzorak od

$$N = \left(\frac{2 \cdot 2.58}{6} \cdot 10 \right)^2 = 74 \,\text{osobe}$$

Ako je karakteristika koju tražimo u populaciji ***kategorijska i dihotoma***, tj. može imati samo jednu vrednost koja će ili postojati ili neće kod svake od jedinki što čine populaciju, onda veličinu uzorka određujemo koristeći sličnu logiku. Ako bismo uzimali ogroman broj uzoraka iz populacije, pri čemu bi svaki uzorak imao N članova, i u svakom uzorku odredili proporciju jedinki koje imaju određenu karakteristiku, onda bismo dobili binomnu distribuciju tih proporcija. Srednja vrednost takve distribucije bi bila $N \cdot P$, pri čemu je P verovatnoća da jedna jedinka u populaciji ima karakteristiku koju tražimo, što je isto što i prevalencija te karakteristike u populaciji.Varijansa takve distibucije je jednaka $N \cdot P \cdot (1-P)$, a standardna devijacija kvadratnom korenu varijanse: $\sqrt{N \cdot P \cdot (1-P)}$. Ako bismo pokušali da procenimo vrednost P na osnovu zastupljenosti tražene karakteristike u našem uzorku (označimo je sa

malim "p"), to možemo da učinimo tako što bismo definisali granice poverenja u kojima bi se našla prevalencija karakteristike u odnosu na p. Aproksimacija za granice poverenja se može odrediti preko normalne distribucije na osnovu formule:

$$p \pm z_{1-\frac{\alpha}{2}} \cdot \sqrt{\frac{p \cdot (1-p)}{N}}$$

Ako izaberemo da će granice poverenja uključiti prevalenciju karakteristike u populaciji sa verovatnoćom od 95%, onda uzimamo da je vrednost $z_{1-\frac{\alpha}{2}} = 1.96$; ako je naš izbor verovatnoća od 99%, onda je vrednost 2.58.

Veličinu uzorka kada je karakteristika koju tražimo u populacji kategorijska varijabla možemo izračunati iz prethodne formule, ako izaberemo raspon između granica poverenja i pretpostavimo zastupljenost karakteristike (varijable) u uzorku (i jednu i drugu pretpostavku ćemo zasnovati na rezultatima sličnih studija iz prošlosti). Dakle, broj jedinki u uzorku ćemo izračunati transformacijom sledeće formule:

$GP = 2 \cdot z_{1-\frac{\alpha}{2}} \cdot \sqrt{\frac{p \cdot (1-p)}{N}}$, gde je GP raspon između granica poverenja.

Iz prethodne formule sledi da je broj jedinki u uzorku (N):

$$N = 4 \cdot (z_{1-\frac{\alpha}{2}})^2 \cdot \frac{p \cdot (1-p)}{GP^2}$$

Da vidimo sada kako bi izgledala primena ove formule na primeru. Recimo da nas zanima da izračunamo koliko domaćih muva (*Musca domestica*) treba da uhvatimo da bi procenili sa verovatnoćom od 99% učestalost pojave bele mrlje na krilima u celokupnoj populaciji domaćih muva. Na osnovu prethodnih studija shvatili smo da je ta pojava vrlo retka, i da se sreće kod jedne od 1,000 do 1 od 10,000 domaćih muva. Dakle, možemo pretpostaviti da bi učestalost u uzorku bila oko 0.0005, što je neka srednja učestalost na osnovu

literature. Neka granice poverenja obuhvate ceo raspon učestalosti iz prethodnih studija, tj. 0.001 – 0.0001 = 0.0009. Broj muva koje treba da uhvatimo da bi izvršili naš zadatak iznosi:

$$N = 4 \cdot 2.58^2 \cdot \frac{0.0005 \cdot 0.9995}{0.0009^2} = 4 \cdot 6.6564 \cdot \frac{0.00049975}{0.00000081} = 16.427 \text{ muva}$$

Ako bismo hteli da povećamo preciznost procene, pa da suzimo raspon između granica poverenja, trebalo bi nam još mnogo više muva u uzorku.

Kada smo definisali strukturu uzorka i njegovu veličinu, sledi uključivanje jedinki iz populacije u uzorak. Ključni moment u tom postupku je **SLUČAJAN IZBOR** jedinki, tj. sve jedinke moraju imati podjednaku šansu da budu uključene u uzorak. Jedino tada možemo verovati da će uzorak verodostojno odraziti stanje u populaciji, jer će biti isključen naš uticaj na izbor jedinki. Ukoliko izbor jedinki za uzorak nije slučajan, mi ćemo svesno ili nesvesno izabrati jedinke na kojima ćemo lakše dokazati ono što tražimo, što će dati pogrešnu sliku o celoj populaciji.

Najjednostavniji oblik slučajnog izbora jedinki za uzorak je formiranje tzv. ***prostog slučajnog uzorka***, gde uzorak nije strukturiran, i gde svi članovi populacije imaju istu šansu za izbor. Za formiranje takvog uzorka neophodno je prvo numerisati sve članove populacije, a zatim po slučanom principu odabrati onoliko jedinki koliko je veliki uzorak. Izbor se može obaviti korišćenjem tablica slučajnih brojeva, ili generatora slučajnih brojeva u okviru računarskih programa (npr. u programu Excel), ili pak najjednostavnijim izvlačenjem papirića iz "bubnja" u kome se nalazi onoliko papirića koliko ima članova populacije, a na svakom papiriću je upisan broj koji označava samo jednog, tačno određenog člana.

Ukoliko naš uzorak treba da ima strukturu sličnu onoj u populaciji, onda, kao što je već pomenuto, treba definisati slojeve (stratume) populacije i uzorka, a zatim za svaki stratum populacije izvršiti posebnu numeraciju svih

članova koji se u njemu nalaze, i najzad po slučajnom principu izabrati jedinke u odgovarajući stratum uzorka. Na primer, ako populacija ima dva stratuma, muški i ženski pol, onda ćemo posebno numerisati muškarce, a posebno žene. Zatim ćemo za svaki pol izabrati po slučajnom principu (tablice slučajnih brojeva, generator slučajnih brojeva ili "bubanj") odgovarajući broj jedinki koje će ući u uzorak. Ovakav uzorak se naziva ***stratifikovan slučajan uzorak***.

Posebna vrsta slučajnog uzorka je ***klaster uzorak***. Reč "klaster" označava grupu istih ili sličnih jedinki (elemenata) koje su međusobno povezane prostorno ili vremenski. On se bira onda kada su jedinke koje čine populaciju na neki način već grupisane, npr. ako populaciju koja je predmet istraživanja čine pacijenti operisani zbog tumora mozga, oni su već grupisani po bolnicama u kojima je obavljena operacija (svi pacijenti u jednoj bolnici čine jedan klaster). Dakle, ako bi nam trebalo oko 200 pacijenata iz Srbije operisanih zbog tumora mozga za našu studiju, a u zemlji se nalaze 4 bolnice u kojima se sprovode neurohirurške operacije, mogli bismo postupiti na sledeći način: prvo po principu slučajnosti izaberemo 2 od ukupno 4 bolnice (tj. 2 od ukupno 4 klastera), a zatim iz svakog od 2 izabrana klastera slučajno izaberemo po 100 pacijenata. Na sličan način možemo izabrati klaster uzorak i za druge populacije, npr. uzorak populacije mrava koja živi na jednoj livadi u 16 mravinjaka, uzorak učesnika 10 poslednjih festivala kamerne muzike i drugo.

STUDIJSKE VARIJABLE

Pošto smo odredili temu, utvrdili vrstu studije i izabrali populaciju i uzorak, treba da definišemo varijable (parametre, promenljive) koje ćemo meriti na svakom članu studijskog uzorka. Kada smo određivali temu, onda smo nagovestili dve najvažnije varijable: ishod (zavisna varijabla) i uzrok (nezavisna varijabla). Sada ih treba detaljnije odrediti. Pre svega, nekada možemo imati više zavisnih varijabli (ishoda), ili se jedna složena zavisna

varijabla može meriti na više načina (npr. ako je zavisna varijabla uspeh na studijama, on se može meriti prosečnom ocenom, dužinom studiranja, procentom položenih ispita u prvom ispitnom roku, itd.). Svaku zavisnu varijablu i svaki vid merenja složene zavisne varijable treba navesti posebno, a zatim precizno opisati **METOD** merenja. Na primer, ako je zavisna varijabla krvni pritisak neke osobe, treba opisati precizno u kom položaju će se meriti (sedećem ili ležećem), kojom vrstom aparata, kada u toku dana, posle koliko minuta mirovanja, koliko puta dnevno, ko će obavljati merenje (najbolje je da to ne budu sami istraživači, kako bi se očuvala objektivnost), da li će postojati objektivan zapis merenja, itd. Dakle, precizan opis svih detalja merenja neke studijske varijable je neophodan, kako bi se kroz njega sagledalo da li će to merenje biti TAČNO, PRECIZNO, POUZDANO i OBJEKTIVNO. ***Tačnost*** merenja podrazumeva da merimo pravu varijablu, a ne neku drugu: npr. ako želimo da merimo stepen depresivnosti kod starih osoba, treba da izaberemo odgovarajući upitnik koji meri baš depresivnost; ukoliko uzmemo neki drugi upitnik, koji meri npr. anksioznost, naše merenje neće biti tačno, tj. biće pogrešno, jer ćemo meriti anksioznost umesto depresivnosti. Da bi merenje varijable bilo tačno, način merenja ili instrument merenja moraju biti odgovarajući, tj. takvi da zaista mere tu varijablu. ***Preciznost*** merenja znači da izabrani metod merenja može da u dovoljnoj meri odredi vrednost varijable. Na primer, ako merimo visinu osobe, treba da je odredimo u centimetrima, a ne u metrima, ako merimo prečnik ćelija koje izučavamo, treba ga izmeriti u mikrometrima, a ne u milimetrima, i slično. Kada merimo koncentracije nekih supstanci koje su vrlo niske, moramo raspolagati metodom merenja koja može detektovati i tako niske koncentracije. ***Pouzdanost*** merenja podrazumeva da će ponovljena merenja na istoj jedinki dati veoma slične rezultate; to se može prikazati kroz srednju vrednost i standardnu devijaciju rezultata ponovljenih merenja na istoj jedinki. ***Objektivnost merenja*** postižemo ako se ono tako sprovodi da

onemogućava uticaj istraživača na rezultate. Najbolje je ako merenje može da sprovede osoba koja je nezavisna od istraživača, i ako postoji objektivan zapis samog merenja, koji se može naknadno uvek proveriti. Svako merenje treba da bude datirano, da bude zabeleženo ko ga je sproveo, kada, pod kojim uslovima, kojim instrumentom, i da bude priložen zapis merenja koji pravi sam instrument, ako ta mogućnost postoji. Ako je varijabla kategorijska, tako da se samo utvrđuje da li je svaka jedinka iz uzorka ima ili nema, opet je potrebno definisati ko će to utvrditi, kada, na osnovu uvida u dokumentaciju, pregleda jedinke ili razgovora sa jedinkom, i navesti gde će se upisati rezultat, koji treba obavezno datirati. Objektivnost merenja je izuzetno važna, jer samo ako ona postoji možemo verovati rezultatima studije; kada se utvrđuje da li je studija validna, tj. da li joj se može verovati, prvo se proverava da li je merenje varijabli bilo objektivno.

Osim zavisnih i nezavisnih varijabli postoje zbunjujuće varijable. To su karakteristike članova populacije koje mogu makar indirektno uticati na dejstvo nezavisne na zavisnu varijablu, i tako pojačati ili smanjiti (maskirati) to dejstvo. Zbog zbunjujućih varijabli nam može izgledati da nezavisna varijabla deluje na zavisnu, a da ustvari nema nikakvog uticaja, ili obrnuto, da nezavisna varijabla nema dejstvo, a da ono zaista postoji. Kod eksperimentalnih studija možemo da većinu zbunjujućih varijabli isključimo ili kontrolišemo pomoću kriterijuma za uključivanje i isključivanje jedinki, dok kod opservacionih studija treba da pažljivo i temeljito promislimo SVE MOGUĆE zbunjujuće varijable, i da ih uključimo u plan istraživanja. Kao i kod nezavisnih i zavisnih varijabli, potrebno je za svaku od zbunjujućih varijabli precizno navesti metodologiju merenja.

STATISTIČKA PITANJA

Statistička pitanja se mogu uslovno podeliti na dva aspekta: (1) potrebno je pre početka istraživanja odrediti veličinu studijskih grupa koja će omogućiti sa velikom verovatnoćom otkrivanje razlike između grupa u pogledu zavisne varijable (ishoda), ukoliko razlika zaista postoji; (2) po završenom istraživanju treba statističkim testovima na dobijenim podacima utvrditi da li postoje razlike između studijskih grupa. Prvi aspekt predstavlja određivanje veličine studijskih grupa na osnovu željene snage studije, a drugi aspekt primenu odgovarajućih statističkih testova na definitivnim podacima. Da bi drugi aspekt bio uspešan, tj. da bismo mogli utvrditi postojanje ili nepostojanje razlike među studijskim grupama, neophodno je da u studiju uključimo dovoljan broj jedinki, tj. da što preciznije izračunamo veličinu grupa koje ćemo formirati i koristiti u istraživanju.

Izračunavanje veličine studijskih grupa na osnovu željene snage studije

Da bismo izračunali koliko jedinki nam je potrebno u svakoj od grupa u našem istraživanju, polazimo od nekoliko pretpostavki:

1. Prvo treba da odredimo da li će se studijske grupe formirati prema zavisnoj ili prema nezavisnoj varijabli (npr. ako se formiraju prema nezavisnoj varijabli prisustvo ili odsustvo pušenja, onda ćemo imati grupe pušače ili nepušače, a upoređivaćemo zavisnu varijablu procenat obolelih od hroničnog bronhitisa između te dve grupe; obrnuto, možemo da formiramo grupe prema zavisnoj varijabli prisustvo ili odsustvo hroničnog bronhitisa, a onda da upoređujemo procenat pušača u tim dvema grupama, jer je pušenje nezavisna varijabla);

2. Verovatnoća da ćemo otkriti razliku između grupa u pogledu zavisne ili nezavisne varijable ukoliko ona zaista postoji (tj. snaga studije, koja se označava sa „P“ od engleske reči „power“) treba da bude dovoljno velika, a nikako manja od 80%;
3. Verovatnoća da ćemo statističkim testom pokazati da postoji razlika u pogledu zavisne ili nezavisne varijable između grupa kada ona zaista ne postoji (tj. verovatnoća statističke greške prvog tipa, koja se označava sa „α“) treba da bude dovoljno mala, a nikako veća od 5%;
4. U zavisnosti od karaktera zavisne ili nezavisne varijable (da li je kontinualna ili kategorijska), vrste distribucije rezultata merenja varijable (da li je distribucija normalna ili ne), broja studijskih grupa i izabrane vrste studije treba da izaberemo odgovarajući statistički test koji će se moći upotrebiti za ispitivanje postojanja razlike između studijskih grupa po završetku studije i prikupljanju podataka;
5. Treba da pretpostavimo veličinu razlike u rezultatima merenja zavisne ili nezavisne varijable među studijskim grupama; to je najbolje učiniti na osnovu rezultata prethodnih studija koje su se bavile istom ili sličnom temom, ali ako takve studije nisu publikovane, moramo sami pretpostaviti razliku. U svakom slučaju u planu istraživanja treba da bude jasno navedena logika na osnovu koje je pretpostavljena razlika, i po mogućstvu odgovarajuća referenca.
6. Ako je varijabla koja se upoređuje među studijskim grupama kategorijska, onda treba pretpostaviti i njenu zastupljenost u kontrolnoj grupi, a ako je varijabla kontinuirana, onda je potrebno još pretpostaviti veličinu disperzije rezultata njenog merenja oko srednje vrednosti, tj. varijansu ili standardnu devijaciju.

Dakle, ako definišemo sve prethodno navedene tačke, imamo dovoljnu osnovu da izračunamo minimalo potrebnu veličinu studijskih grupa. To se može učiniti pomoću nekih proverenih statističkih programa kao što su G-Power (besplatno dostupno na: http://www.psycho.uniduesseldorf.de/abteilungen/aap/gpower3/) ili DSTPLAN (besplatno dostupno na: https://biostatistics.mdanderson.org/SoftwareDownload/SingleSoftware.aspx?Software_Id=41), za koje onda obavezno treba navesti referencu, ali je bolje ako istraživač to sam učini pomoću odgovarajućih statističkih formula, jer će mu onda biti daleko jasnije zašto je potrebna baš tolika veličina studijskih grupa. U narednom tekstu će biti opisan postupak izračunavanja veličine studijskih grupa ako ih ima ukupno dve ili tri i više, i ako je varijabla koja se upoređuje među grupama kontinualnog ili kategorijskog karaktera. To su najčešći slučajevi, iz kojih će čitaoci shvatiti principe izračunavanja, što dalje mogu primeniti i na složenije primere.

Dve studijske grupe, kontinualna varijabla

Veličina grupa će biti dovoljna ako se stvarna razlika među populacijama koje predstavljaju studijske grupe u vrednosti kontinualne varijable bude nalazila u okviru granica poverenja oko razlike među grupama koju budemo pronašli u našoj studiji. Zato za izračunavanje veličine grupe koristimo formulu koja izjednačava očekivanu razliku u vrednosti kontinualne varijable između grupa sa delom širine normalne distribucije tih razlika iz hipotetičkih, ponovljenih studija. Ukoliko je deo širine distibucije koji uzimamo u obzir veći (tj. α je malo, a P veliko), biće nam potrebno više pacijenata. Formula glasi:

$$\mu_1 - \mu_2 = \frac{\sqrt{2} \cdot (a+b) \cdot SD}{\sqrt{N}}$$

gde je μ_1 - srednja vrednost varijable u jednoj grupi, μ_2 - srednja vrednost varijable u drugoj grupi, SD - standardna devijacija srednje vrednosti varijable u populaciji, N - broj jedinki u svakoj od grupa, a – vrednost koja određuje širinu normalne distribucije na osnovu vrednosti α, i b – vrednost koja određuje širinu normalne distribucije na osnovu veličine snage studije (P). Vrednost a je 1.96 za α = 0.05, i 2.58 za α = 0.01. Vrednost b je 0.842 za P=80%, i 1.28 za P = 90%. Iz prethodne formule sledi da je veličina svake od grupa:

$$N = \frac{2 \cdot (a+b)^2 \cdot SD^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Postupak izračunavanja se može ilustrovati jednim primerom. Recimo da želimo da izračunamo minimalnu veličinu grupa da bi mogli sa verovatnoćom od 80% (P) da otkrijemo razliku u srednjoj vrednosti nivoa holesterola u krvi između dve grupe pacijenata u iznosu od 1 mM. Ako uzmemo da verovatnoća da proglasimo nepostojeću razliku značajnom (α) bude najviše 0.05, i ako smo iz prethodno objavljenih studija utvrdili da je standardna devijacija oko srednje vrednosti holesterola u humanoj populaciji 2 mM, onda će nam trebati sledeći broj pacijenata po grupi:

$$N = \frac{2 \cdot (1.96 + 0.842)^2 \cdot 2^2}{1^2} = \frac{62.8}{1} = 63$$

Dve studijske grupe, kategorijska dihotoma varijabla

I u ovom slučaju polazimo od pretpostavke da će veličina grupa biti dovoljna ako se stvarna razlika među populacijama koje predstavljaju studij-

ske grupe u zastupljenosti jedne vrednosti dihotome varijable bude nalazila u okviru granica poverenja oko razlike među grupama koju budemo pronašli u našoj studiji. Zato za izračunavanje veličine grupe koristimo formulu koja izjednačava očekivanu razliku u zastupljenosti jedne vrednosti dihotome varijable između grupa sa delom širine normalne distribucije tih razlika iz hipotetičkih, ponovljenih studija. Formula izgleda ovako:

$$X = \frac{(a+b)\cdot\sqrt{(p_1\cdot q_1 + p_2\cdot q_2)}}{\sqrt{N}}$$

Simboli upotrebljeni u ovoj formuli znače sledeće: X – razlika u zastupljenosti jedne od vrednosti dihotome varijable među grupama, p_1 – zastupljenost jedne vrednosti dihotome varijable u prvoj grupi, q_1 – zastupljenost druge vrednosti dihotome varijable u prvoj grupi (dakle, $p_1 + q_1 = 1$), p_2 – zastupljenost jedne vrednosti dihotome varijable u drugoj grupi, q_2 – zastupljenost druge vrednosti dihotome varijable u drugoj grupi (dakle, $p_2 + q_2 = 1$), N –potreban broj jedinki u svakoj od grupa, a – vrednost koja određuje širinu normalne distribucije na osnovu vrednosti α, i b – vrednost koja određuje širinu normalne distribucije na osnovu veličine snage studije (P). Vrednost a je 1.96 za $\alpha = 0.05$, i 2.58 za $\alpha = 0.01$. Vrednost b je 0.842 za P = 80%, i 1.28 za P = 90%. Iz prethodne formule sledi da je potrebna veličina svake od studijskih grupa (N):

$$N = \frac{(a+b)^2\cdot(p_1\cdot q_1 + p_2\cdot q_2)}{X^2}$$

Da pogledamo kako ova formula funkcioniše na jednom primeru. Recimo da želimo da odredimo najmanju veličinu grupa koja je potrebna da bi mogli sa verovatnoćom od 80% (P) da otkrijemo razliku u između dve grupe stabala kajsije (jedna tretirana fungicidom, a druga ne) u pojavi bolesti kovrdžanja listova od 10%. Iz prethodnih studija nam je poznato da se bolest kovrdžanja listova javlja kod oko 30% netretiranih stabala, što znači da je $p_1 = 0.3$,

$q_1 = 0.7$, $p_2 = 0.2$ i $q_2 = 0.8$. Ako uzmemo da verovatnoća da proglasimo nepostojeću razliku značajnom (α) bude najviše 0.05, onda će nam u svakoj od dve studijske grupe trebati sledeći broj stabala:

$$N = \frac{(1.96 + 0.842)^2 \cdot (0.3 \cdot 0.7 + 0.2 \cdot 0.8)}{0.1^2} = \frac{7.851204 \cdot 0.37}{0.01} = 290$$

Tri ili više studijskih grupa, kontinualna ili kategorijska varijabla

Ukoliko postoji više od dve studijske grupe, cilj je da se pokaže ili odbaci da postoji značajna razlika među grupama uopšte, kao i između kojih grupa ona postoji. Da bi imali dovoljno ispitanika za dokazivanje ili odbacivanje postojanja značajne razlike, treba da omogućimo da se to može izvesti na dve grupe među kojima očekujemo najmanju razliku. Dakle, ***postupak se svodi na izračunavanje veličine dve grupe sa najmanjom očekivanom razlikom, a zatim izračunatu veličinu te dve grupe primenjujemo na ostale***. U zavisnosti da li je varijabla koja se posmatra kontinualna ili kategorijska, primenićemo odgovarajuću formulu za izračunavanje veličine dve izabrane grupe. Logično je pretpostaviti da će se veća razlika između grupa takođe moći dokazati sa izračunatim brojem ispitanika.

Na primer, ako bismo ispitivali efekat tri doze jednog antihipertenziva na krvni pritisak pacijenata sa hipertenzijom, imali bi tri grupe, jednu koja prima dozu A, drugu koja prima dva puta veću dozu, 2A i treću koja prima tri puta veću dozu, 3A. Recimo da se na osnovu prethodnih studija može očekivati da će najmanja razlika u smanjenju krvnog pritiska biti između grupa koje primaju doze A i 2A. Sada ćemo izračunati veličinu tih dvaju grupa, na osnovu formule za izračunavanje veličine uzorka dve grupe kod kojih merimo kontinualnu varijablu:

$$N = \frac{2 \cdot (a+b)^2 \cdot SD^2}{(\mu_1 + \mu_2)^2}$$

Za treću grupu ćemo uzeti da ima isti broj ispitanika kao i prve dve grupe.

Izbor statističkog testa za obradu podataka dobijenih studijom

Kada se prikupe podaci u studiji, potrebno ih je statistički obraditi. Posle primarne statističke obrade (kodiranje podataka, unošenje u tabele statističkih programa, izračunavanje mera centralne tendencije i rasipanja [disperzije] podataka, izračunavanje procentualne zastupljenosti pojedinih vrednosti kategorijskih varijabli) treba izabrati odgovarajuće statističke testove radi ispitivanja tačnosti postavljenih hipoteza. Prvi koraci u izboru statističkog testa (testova) su:

- Jasno utvrditi da li su varijable čije vrednosti nameravamo da obradimo kontinualne ili kategorijske;
- Kod kategorijskih varijabli utvrditi da li imaju samo dve vrednosti (dihotome) ili više;
- Za kategorijske varijable koje imaju više vrednosti utvrditi da li su ordinalne (tj. da li postoji gradacija vrednosti po intenzitetu) ili nominalne (tj. vrednosti se ne mogu poređati po intenzitetu);
- Za kontinualne varijable utvrditi da li su njihove vrednosti normalno distribuirane ili ne (ovo utvrđujemo pomoću Kolmogorov-Smirnovljevog testa, koji upoređuje stvarnu distribuciju prikupljenih vrednosti varijable sa normalnom distribucijom).

Ako su vrednosti neke varijable kontinualne i normalno distribuirane, za utvrđivanje razlike između studijskih grupa u pogledu te varijable koristimo ***parametarske*** statističke testove (ako imamo dve grupe, onda studentov T-test, a ako imamo više grupa, onda analizu varijanse). Kod kontinualnih varijabli koje nisu normalno distribuirane koristimo ***neparametarske*** statističke testove (Man-Vitnijev U test za dve nezavisne grupe, Wilkoksonov test za dve zavisne grupe, i Kraskal-Volisovu neparametarsku analizu varijanse ako ima više grupa). Ukoliko je potrebno da utvrdimo da li vrednosti dve kontinualne varijable koreliraju, to možemo učiniti izračunavanjem Pirsonovog koeficijenta korelacije ukoliko su vrednosti obe varijable normalno distribuirane, ili Spirmanovog koeficijenta ukoliko podaci nisu normalno distribuirani.

Za upoređivanje studijskih grupa u pogledu zastupljenosti pojedinih vrednosti kategorijske varijable koristimo Hi-kvadrat test pod uslovom da nijedna od vrednosti nije jednaka nuli u nekoj od grupa, ili da dve ili više vrednosti u pojedinim grupama nisu zastupljene kod manje od 5 članova tih grupa. Ukoliko navedeni uslov nije ispunjen, umesto Hi-kvadrat testa se koristi Fišerov test.

Kada ispitujemo istovremeni uticaj većeg broja varijabli (bez obzira da li su kontiualne ili kategorijske) na jednu zavisnu varijablu kategorijskog, ali dihotomog karaktera, onda koristimo statistički test koji se naziva binarna logistička regresija. Kada veći broj varijabli istovremeno utiče na jednu zavisnu kontinualnu varijablu, taj se uticaj može ispitati primenom testa koji se naziva multipla linearna regresija.

Za složeniji dizajn istraživanja koristimo komplikovanije testove, kao što je multivarijabilna analiza varijanse (MANOVA). Ona se koristi kada postoji više studijskih grupa formiranih na osnovu nezavisnih varijabli koje imaju ***dve ili više zavisnih varijabli***, i može da utvrdi sledeće: da li nezavisne varijable imaju uticaj na zavisne, da li postoji veza između zavisnih varijabli i da li po-

stoji veza između nezavisnih varijabli. Neophodan uslov da bi se koristila MANOVA je normalna distribucija vrednosti svih ispitivanih kontinualnih varijabli.

Pored navedenih statističkih testova, koriste se i drugi u određenim okolnostima, ali će u njima biti reči kod pojedinih vrsta istraživanja za koje su oni neophodni.

2 ETIČKA PITANJA

Svaki oblik naučnog istraživanja treba da poštuje međunarodno priznate etičke principe koji su postavljeni da bi se izbegle nepotrebne patnje živih predmeta istraživanja, zaštitio njihov integritet, sprečile negativne posledice po živi svet i planetu Zemlju u celini, kao i da bi se moglo verovati da su rezultati istraživanja objektivni. Ovi etički principi su proistekli iz lošeg iskustva sa pojedinim istraživanjima u prošlosti, i sadržani su u dokumentima različitog tipa, od deklaracija međunarodnih tela i organizacija, preko vodiča dobre prakse u istraživanjima do zakonskih i podzakonskih akata različitih država, uključujući i našu. Neki od najvažnijih dokumenata koji regulišu pojedine etičke aspekte naučnih istraživanja su:

- Helsinška deklaracija Svetske medicinske asocijacije o etičkim principima medicinskih istraživanja koja uključuju ljudska bića, doneta 1964. godine, sa većim brojem amandmana koji se periodično donose. Ovaj dokument reguliše etička pitanja istraživanja na ljudima *in vivo*, gde se oni izlažu lekovima ili različitim medicinskim sredstvima i postupcima, dok se samo u jednom članu pominju osnovni principi studija na materijalu humanog porekla *in vitro*.
- Konvencija o ljudskim pravima i biomedicini, koji je doneo Savet Evrope u Ovijedu 1977. godine. Ova konvencija reguliše etička pitanja istraživanja na ljudima i materijalu humanog porekla.
- Smernice dobre kliničke prakse u kliničkom ispitivanju (2008) koje u Republici Srbiji predstavljaju podzakonski akt. U ovim smernicama su

navedeni principi etičkog postupanja istraživača u kliničkim ispitivanjima kao i način formiranja i funkcionisanja Etičkog odbora, najvažnijeg tela koje se stara o poštovanju etičkih principa tokom realizacije kliničkih istraživanja.

- Zajednička politika tri Kanadske savezne agencije za istraživanja u pogledu etičkih principa istraživanja koja uključuju ljudska bića. Mada jer ovaj dokument pravno obavezujući samo za istraživače u Kanadi, on sveobuhvatno reguliše etička pitanja kliničkih istraživanja, istraživanja na materijalu humanog porekla, kvalitativna istraživanja, genetska istraživanja i konflikt interesa istraživača, pa je za svakog istraživača veoma korisno da ga pročita.
- Međunarodni vodič za biomedicinska istraživanja koja uključuju životinje koji su izdali zajedno Međunarodni savet za naučna istraživanja na laboratorijskim životinjama i Savet za međunarodnu organizaciju medicinskih nauka (IGP for BRIA, 2012). U vodiču su navedeni osnovni principi humanog postupanja sa eksperimentalnim životinjama i uslovi koje istraživači treba da ispune kada sprovode eksperimente na životinjama.
- Deklaracija Evropskog parlamenta o zaštiti životinja koje se koriste za naučna istraživanja (Directive 2010/63/EU) - definiše minimum etičkog ponašanja istraživača tokom korišćenja životinja za eksperimente (ukratko: treba koristiti eksperimentalne životinje u što manjem broju i pri tom postupati sa njima tako da se izbegnu nepotrebna patnja, smrtni ishod ili trajno oštećenje kad god je to moguće.
- Zakon o dobrobiti životinja Republike Srbije (2009) kojim se precizno regulišu uslovi što ih moraju ispunjavati ustanove i pojedinci koji vrše oglede na životinjama, kao i postupak registracije, odobravanja, sprovođenja i izveštavanja o studijama na životinjama.

U navedenim dokumentima su između ostalog izneti ključni principi koje treba poštovati da bi istraživanje bilo etično: (1) istraživanje mora doneti makar i najmanju korist za čoveka i društvo; (2) istraživanje treba da metodološki bude ispravno postavljeno, kako bi donelo rezultate kojima se može verovati; (3) odnos koristi i štete po ispitanike i društvo zbog sprovođenja istraživanja treba da bude povoljan; (4) izbor ispitanika za studiju mora biti nepristrasan; (5) subjekti istraživanja se moraju poštovati; (6) kada su ispitanici ljudi, neophodno je da pre početka studije budu detaljno informisani o svim koristima i rizicima i da daju svoj pristanak u pisanoj formi; (7) studija se ne sme sprovoditi ukoliko nije odobrena od nezavisnog Etičkog odbora.

Najznačajnije telo koje se stara o etičnosti istraživanja i pre svega o zaštiti interesa ispitanika (bilo da su to ljudi, životinje ili biljke) je Etički odbor. Etički odbor (komitet) je nezavisno telo koje treba da bude izabrano od strane nekog šireg stručnog tela ustanove u kojoj se sprovode naučna istraživanja. Odbor treba da u svom sastavu ima predstavnike oba pola, članove koji su zaposleni u ustanovi i one koji to nisu, članove koji su stručnjaci u oblasti istraživanja kojim se bavi ustanova, ali i laike. Odluke koji donosi Etički odbor moraju biti zasnovane na dobrom poznavanju protokola istraživanja i nepristrasne, što znači da članovi koji imaju neki interes vezan za istraživanje o kome se odlučuje ne mogu učestvovati u odlučivanju. Veoma je važno da Etički odbor zaseda redovno (najmanje jednom mesečno), i da ima javno objavljenu preciznu proceduru za podnošenje zahteva za odobrenje studija. Ovo telo donosi odluke o započinjanju istraživanja, prati njihovu realizaciju i razmatra izveštaje o završenim istraživanjima. Etički odbor može u svakom momentu povući odobrenje za početak studije koje je prethodno dao, i time sprečiti dalje izvođenje studije. Međutim, svaka odluka mora biti jasno obrazložena i javno izneta, kako bi se sprečila zloupotreba.

Za procenu etičnosti studija koje se izvode na životinjama ustanove prema važećem Zakonu o dobrobiti životinja formiraju posebne Etičke komisije za zaštitu dobrobiti oglednih životinja, koje obavezno u svom sastavu moraju imati stručnjake iz oblasti veterine (veterinara hirurga i veterinara sa iskustvom u gajenju oglednih životinja), statističara, istraživače iz srodnih naučnih oblasti i predstavnike nevladinih organizacija koje se bave zaštitom prava životinja. Najmanje jedna trećina članova ovih Etičkih komisija ne sme biti zaposlena u ustanovi koja je formirala Etičku komisiju i koja sprovodi istraživanja na životinjama.

Posle pozitivne odluke Etičke komisije, istraživač koji želi da sprovede planirano istraživanje na eksperimentalnim životinjama mora prethodno dobiti saglasnost i Ministra poljoprivrede Republike Srbije, za šta mora podneti poseban zahtev Ministarstvu poljoprivrede. S druge strane, ako je istraživač planirao ispitivanje efikasnosti i/ili bezbednosti nekog leka ili medicinskog sredstva na ljudima, posle pozitivne odluke Etičkog odbora mora dobiti saglasnost i od Agencije za lekove i medicinska sredstva Republike Srbije (za to su potrebna značajna finansijska sredstva, jer Agencija zahteva visoke takse za obradu zahteva, ne razlikujući akademske studije od komercijalnih studija koje sprovode farmaceutske kompanije).

Informacija za pacijenta i pisana saglasnost pacijenta za učešće u studiji

Informacija za pacijenta i formular pisane saglasnosti pacijenta za učešće u studiji su neophodni dokumenti na osnovu kojih pacijent odlučuje da li će učestvovati u studiji. To su dva odvojena dokumenta : informacija za pacijente sadrži sve ono što pacijent treba da zna u vezi sa svojim učešćem u kliničkoj studiji, a formular pisane saglasnosti osim izjave pacijenta da je

razumeo sve informacije vezane za studiju i da je saglasan da učestvuje u njoj sadrži još i mesta gde treba da se potpišu pacijent, istraživač i nezavisni svedok, uz svojeručno upisivanje datuma potpisivanja. Informacija za pacijente mora biti pisana jezikom koji je razumljiv laicima, a pacijentima se mora dati dovoljno vremena da je detaljno pročitaju (najmanje 24 sata).

Informacija za pacijente ima određene obavezne elemente, koji se ne smeju izostaviti. To su: naziv informacije za pacijente, uvodni deo, procedure kojima će pacijent biti podvrgnut, koristi po pacijenta, rizici i neprijatnosti koji se mogu očekivati, postojanje alternativnih tretmana koje pacijent može izabrati, način obezbeđenja zaštite ličnih podataka, eventualna kompenzacija, izjava o dobrovoljnosti učešća, kontakt sa istraživačima i kontakt sa nezavisnim stručnjakom.

Naziv informacije za pacijente mora sadržati reč "ispitanik" ili "studijski pacijent ", kako bi čitaocu bilo jasno da se radi o kliničkom ispitivanju, a ne o pružanju redovnih zdravstvenih usluga. Pacijenti nipošto ne bi smeli da budu u zabludi da su na uobičajenom lečenju, kada zapravo učestvuju u kliničkoj studiji. Posle naziva sledi ***uvodni deo***, u kome treba navesti: šta se u studiji ispituje, šta je cilj istraživanja, a šta hipoteza, kako će se koristiti dobijeni rezultati, po čemu se studijski tretman razlikuje od uobičajenog, kao i imena istraživača (glavnog istraživača i njemu podređenih pod-istraživača).

Kliničko ispitivanje bi trebalo da donosi ***koristi*** i za pacijenta i za društvo, ali se ponekada dogodi da nema koristi po pacijenta. U takvim slučajevima studija mora imati bar potencijalne koristi po društvo kao celinu : u protivnom, takvu studiju ne treba odobriti. Sve potencijalne koristi treba objektivno izneti, bez korišćenja izraza koji su svojstveni autorima reklama. Ako nema koristi po pacijenta, to treba jasno reći i istaći samo koristi za društvo.

U tekstu informacije za pacijente treba jasno navesti ***čemu će pacijenti biti izloženi*** ako pristanu da učestvuju u studiji, što se inače ne bi dogodilo u

okviru uobičajenog lečenja. Pacijenti takođe treba da znaju šta se tačno očekuje od njih, gde treba da idu, koliko vremena će provesti u studiji i koji događaj će označiti kraj njihovog učešća. Posebno treba obavestiti pacijenta o svim mogućim legalnim, ekonomskim, psihološkim i fizičkim rizicima koje donosi učešće u studiji. Svaki od rizika treba da bude pojedinačno naveden, uz procedure koje će biti preduzete da bi se rizici smanjili.

Ukoliko pacijent ne želi da učestvuje u studiji, u tekstu informacije treba da nađe navedene sve ***alternativne opcije lečenja*** koje se kod njega mogu preduzeti. Tek ako je upoznat sa svim mogućnostima, pacijent može da u pravilno proceni odnos koristi i rizika koji nosi njegovo učešće u studiji, i donese definitivnu odluku.

U informaciji za pacijente treba da bude jasno rečeno da će lični podaci pacijenta ostati zaštićeni, i da će dobijeni rezultati studije biti objavljeni samo grupno, bez podataka koji bi omogućili identifikaciju pojedinih pacijenata. ***Zaštita privatnosti pacijenta*** je i zakonska obaveza, čije kršenje se smatra krivičnim delom.

Ukoliko je pacijent plaćen za svoje učešće u studiji ili prima neki vid poklona od organizatora studije, to se mora precizno navesti u tekstu informacije za pacijenta. Etički je opravdana samo ona ***finansijska nadoknada*** pacijentima za učešće u studiji koja pokriva njihove troškove, jer pacijent ne sme biti doveden u situaciju da kroz svoje učešće u studiji može da ostvaruje zaradu. U protivnom bismo dobili mogućnost jednog vida trgovine ljudskim telom. Ako pacijent napusti studiju pre njenog kraja, u informaciji za pacijenta se mora jasno navesti kolika je kompenzacija u tom slučaju

Iz teksta informacije pacijentu treba da bude jasno da je učešće u studiji potpuno ***dobrovoljno***. Treba reći na jednostavan način da pacijent može u bilo kom trenutku odustati od daljeg učešća, i da takva odluka neće imati nikakvih posledica po njegovo dalje lečenje. Ako se u studiji popunjavaju upitnici, treba

u tekstu objasniti pacijentu da može da ne odgovori na bilo koje od pitanja, bez ikakvih posledica po njegovo dalje lečenje.

Da bi pacijenti imali koga da pitaju za sve što ih interesuje, posebno u situacijama koje stvaraju određene dileme, neophodno je u informaciji za pacijente navesti imena svih istraživača i njihove telefone, poštanske i e-mejl adrese. ***Kontakt sa istraživačima*** je veoma važan, ali je možda još važniji ***kontakt sa nezavisnim stručnjakom***, koji može pacijentima dati objektivne informacije o rizicima i koristima koje će imati zbog učešća u studiji. Nezavisni stručnjak je najčešće predsednik Etičkog odbora, ali može biti i neki drugi stručnjak bolnice u kojoj se obavlja istraživanje. Kontakt podatke nezavisnog stručnjaka treba obavezno uključiti u tekst informacije za pacijente.

U ***formularu pristanka pacijenta*** treba navesti izjavu o pristajanju na učešće u studiji u prvom licu, koja jasno odražava da je potpisnik shvatio sve informacije koje su mu bile pružene, da je primio kopiju informacije za pacijenta i formulara pristanka i da pristaje da učestvuje u studiji. Svi pacijenti stariji od 18 godina, ukoliko su pri svesti i normalne inteligencije, da bi učestvovali u studiji moraju prethodno potpisati formular saglasnosti koji je pisan na njihovom maternjem jeziku. Pored pacijenta, potpisuju se istraživač i nezavisni svedok čina pristajanja na učešće u studiji. Ako je osoba nepismena, onda joj se sadržaj informacije za pacijenta mora pročitati pred nezavisnom svedokom, i dati dovoljno vremena da razmisli da li će pristati da učestvuje u studiji. Svedok takođe mora da svojim potpisom na formularu pristanka pacijenta potvrdi da je ova procedura ispoštovana u slučaju nepismenosti. Ako je učesnik u studiji dete, potrebno je da formular pristanka potpiše jedan od roditelja, ukoliko je rizik po dete minimalan, ili oba roditelja, ako je rizik po dete značajan, bez obzira da li se očekuje korist po dete ili ne. Pored toga, deca starosti od 7-18 godina potpisuju poseban formular saglasnosti, pisan njima razumljivim jezikom.

U informaciji za pacijente i formularu pritiska nisu dozvoljeni izrazi kojima se pacijent odriče (ili izgleda da se odriče) svojih prava, na primer prava na nadoknadu štete ili na obraćanje sudu u spornim slučajevima.

Ako studija uključuje genetska ispitivanja, treba u informaciji za pacijente navesti da će njihovi rezultati biti dostavljeni svakom učesniku po završetku studije, i da će biti obezbeđeno genetsko savetovanje (napisati gde će biti sprovedeno, ko će ga sprovesti i ko će platiti tu uslugu). Takođe u informaciji za pacijente treba navesti garanciju tajnosti genetskih informacija i ograničenost upotrebe genetskog materijala samo na studiju koja je odobrena. Treba saopštiti pacijentu da se za svako novo ispitivanje na istom materijalu mora ponovo tražiti njegova saglasnost.

3 KVANTITATIVNI I KVALITATIVNI PRISTUP ISTRAŽIVANJU

Bez obzira da li se radi o eksperimentalnoj, opservacionoj ili teorijskoj studiji, naš pristup istraživačkom pitanju, tj. temi istraživanja, može biti kvantitativan ili kvalitativan. Kvantitativan pristup znači da ćemo pokušati da odgovorimo na istraživačko pitanje ***kroz merenje vrednosti studijskih varijabli*** i njihovo upoređivanje između studijskih grupa pomoću statističkih metoda. Kvantitativan pristup dominira u svim oblastima nauke, i velika većina istraživača ga smatra egzaktnim i jedinim ispravnim pristupom. Međutim, postoje istraživačka pitanja na koja se ***ne može*** odgovoriti kvantitativnim pristupom, iz jednostavnog razloga: studijske varijable su takve da se ***ne mogu meriti*** i izraziti brojkama (Creswell 2014). Na primer, neka je cilj naše studije da otkrijemo uzroke zbog kojih se u populaciji trudnica preterano koriste (zloupotrebljavaju) preparati vitamina grupe B. Kvantitativne metode nam u ovom primeru ne mogu biti od koristi; anketiranjem trudnica bismo mogli samo da utvrdimo veličinu problema, tj. koliko zaista trudnice koriste vitamine grupe B i kako su došle do njih, ali ne i da otkrijemo uzroke. Do uzroka bismo mogli doći samo ako primenimo kvalitativni pristup, tj. ako pokušamo da kroz posmatranje ponašanja trudnica ili kroz razgovor sa njima (intervju) dokučimo koji su njihovi motivi za korišćenje vitamina grupe B.

Kvalitativne metode istraživanja (da pomenemo samo neke: fokus grupa, nominalna grupa, Delfi tehnika, Utemeljena teorija) poslednjih decenija postaju sve više korišćene, i često se kombinuju sa kvantitativnim u istraživanju iste teme, nadopunjujući nedostatke kvantitativnih metoda. Ipak, još uvek

se u naučnim časopisima teže prihvataju za publikovanje rezultati studija sprovedenih kvalitativnim nego kvantitativnim pristupom, uglavnom zbog predrasuda onih recenzenata koji ne poznaju kvalitativne metode, a u svojim istraživanjima koriste isključivo kvantitativni pristup. Vremenom će se takva situacija verovatno promeniti nabolje u korist kvalitativnih studija, kada se veći deo istraživača upozna sa njihovim mogućnostima i shvati da po svojoj pouzdanosti ne zaostaju za kvantitativnim studijama.

4 EKSPERIMENTALNE KVANTITATIVNE STUDIJE NA BIOLOŠKOM ILI DRUGOM MATERIJALU *IN VITRO*

U ovom tipu studija istražujemo kako neka nezavisna varijabla (npr. neka supstanca, fizička sila ili drugo, nazovimo je STIMULUS) koju primenjujemo pod kontrolisanim uslovima utiče na zavisnu varijablu koju ovde uopšteno možemo nazvati ODGOVOR. Dakle studija je eksperimentalna, pošto stimulus primenjujemo samo radi istraživanja, kvantitativna jer ćemo odgovor meriti (i izraziti u nekim mernim jedinicama ili samo utvrditi njegovo postojanje, odnosno odsustvo), i "*in vitro*"jer se stimulus primenjuje na materijalu (smesama hemijskih jedinjenja, enzimima, ćelijama, tkivima, neživim predmetima i dr.) koji se nalazi van živog organizma ("u staklu", tj. u posudama koje su najčešće staklene).

Šta je u ovakvim studijama "populacija" koja je predmet istraživanja? To bi bio skup svih jedinica posmatranja koje imaju iste osnovne karakteristike, iz koga ćemo uzeti uzorak na kome sprovodimo istraživanje. Na primer, ako je tema istraživanja uticaj nekog stimulusa na odgovor krvnih pločica (trombocita) miša, onda populaciju koja je predmet istraživanja čine svi pacovi određenog soja (npr. beli pacovi Wistar soja). To znači da će krvne pločice od jednog pacova biti jedna jedinica posmatranja, tj. njihovo ispitivanje van tela tog pacova će biti jedan eksperiment. Kada na osnovu željene snage studije i dugih potrebnih podataka (videti poglavlje o određivanju veličine uzorka) izračunamo koliko nam je potrebno jedinica posmatranja u studijskim grupama, to zapravo znači da nam je potrebno toliko uzoraka krvnih pločica od isto toliko pacova (jedan uzorak od jednog pacova). Dakle, odgovor jednog uzorka krvnih

pločica uzetog od jednog pacova na jedan intenzitet stimulusa je jedna jedinica posmatranja, tj. jedan "član" studijske grupe. Recimo da smo izračunali da nam je za ispitivanje dejstva jednog intenziteta stimulusa na odgovor krvnih pločica pacova potrebno 20 jedinica posmatranja; to ustvari znači da su nam potrebni uzorci krvi od 20 pacova. Ni u kom slučaju ne možemo uzeti 20 uzoraka krvnih pločica od istog pacova, što se ponekada sreće u studijama lošeg dizajna.

Kako da postupimo kada je predmet istraživanja populacija ćelija koje sve potiču od iste grupe ćelija sa precizno definisanim (standardizovanim) osobinama, npr. standardni soj bakterija ili određena standardna kultura ćelija čoveka? Šta je ovde jedinica posmatranja? S obzirom da se i bakterije i ćelije čoveka moraju pre eksperimenta umnožiti na odgovarajućim podlogama ("presejati"), svaki ciklus umnožavanja bi bio jedna jedinica posmatranja na kome se može ispitati jedan intenzitet stimulusa. To praktično znači da za veličinu studijske grupe od 20 jedinica posmatranja treba uzeti uzorke od 20 presejavanja originalnog baterijskog soja, tj. originalne ćelijske linije.

Ne treba zaboraviti da svako merenje na jednoj jedinici posmatranja treba ponoviti ***najmanje tri puta***, i kao najverovatniji odgovor uzeti srednju vrednost ta tri merenja. Time se smanjuje efekat greške pri merenju i izbegava da se artefakt proglasi za odgovor (artefakt – odgovor koji nije posledica dejstva stimulusa, već nekog drugog faktora koji nije kontrolisan u eksperimentu na odgovarajući način, npr. povišena temperatura sredine). Takođe je neophodno da svako merenje na jednoj jedinici posmatranja ima svoju ***negativnu kontrolu***, tj. treba izmeriti odgovor i kada stimulus nije primenjen. Negativna kontrola nam omogućava da isključimo uticaj spontanih kolebanja samih jedinica posmatranja na odgovor na primenjeni stimulus. Ako je moguće, treba primeniti i tzv. "pozitivnu kontrolu", tj. izmeriti odgovor jedinice posmatranja na neki drugi stimulus za koga odranije znamo da izaziva odgovor na toj

populaciji. ***Pozitivna kontrola*** nam garantuje da je jedinica posmatranja u dobrom funkcionalnom stanju, i da eventualni izostanak odgovora na stimulus nije posledica oštećenja ili smrti uzoraka ćelija.

Osim navedenih principa, pri izvođenju eksperimentalnih studija potrebno je da se poštuju i ova tri: replikacija, randomizacija i lokalna kontrola. ***Replikacija*** znači da eksperiment treba ponoviti na više jedinica posmatranja (a svaki put, kako je gore rečeno, se merenje na istoj jedinici posmatranja ponavlja 3 puta) kako bi se odredila ne samo centralna tendencija odgovora, već i njegova varijabilnost. Na primer, ispitivanje dejstva acetilholina na izolovanu žučnu kesicu zamorčeta treba obaviti na žučnim kesicama od najmanje 6 različitih životinja, pri čemu se na svakoj žučnoj kesici merenje odgovora na acetilholin ponavlja tri puta. ***Randomizacija*** znači da se jedinice posmatranja svrstavaju u grupu izloženu nezavisnoj varijabli i kontrolnu grupu po slučajnom principu. Na primer, ako ispitujemo efekat acetilholina na žučnu kesicu zamorčeta, potrebno je po slučajnom principu od 12 životinja njih 6 svrstati u grupu gde će se primeniti acetilholin, a 6 u kontrolnu grupu koja se neće izlagati acetilholinu. Randomizacija sprečava da sklonost istraživača utiče na rezultate. Najzad, neophodno je u svim eksperimentalnim istraživanjima imati ***kontrolnu grupu***, koja neće biti izložena nezavisnoj varijabli; ovo je neophodno kako bi se odvojile spontane, fiziološke promene na jedinicama posmatranja od promena izazvanih nezavisnom varijablom koja se ispituje.

Većina stimulusa se može primeniti u više intenziteta, npr. neka supstanca se može primeniti u većem broju rastućih koncentracija. Ako želimo da zaista dokažemo da takav stimulus izaziva određeni odgovor na populaciji koju ispitujemo, neophodno je da ***dokažemo da postoji značajna pozitivna korelacija između intenziteta stimulusa i intenziteta odgovora***. Zato svaku studiju sa gradiranim stimulusom i gradiranim odgovorom treba planirati

tako da na jednoj jedinici posmatranja primenimo veći broj intenziteta stimulusa. Koliko različitih intenziteta stimulusa treba da primenimo i na koliko jedinica posmatranja možemo izračunati na osnovu željene korelacije koju smatramo značajnom, i na osnovu intervala poverenja oko koeficijenta korelacije u studijskoj grupi u kome bi trebalo da se nađe koeficijent korelacije cele populacije sa određenom verovatnoćom. Ako bismo zamislili da ponavljamo studiju veliki broj puta, dobijeni koeficijenti korelacije iz svakog ponavljanja bi se distribuirali normalno, sa standarnom devijacijom (σ_r) od $\sigma_r = \frac{(1-r^2)}{\sqrt{N-1}}$, gde je r Pirsonov koeficijent korelacije u populaciji, a N broj članova populacije. Za potrebu planiranja veličine studijske grupe, uzećemo da je r Pirsonov koeficijent korelacije koji ćemo dobiti u studijskoj grupi, a N broj jedinica posmatranja u studijskoj grupi. Ako želimo da širina intervala poverenja sa verovatnoćom od 95% sadrži vrednost koeficijenta korelacije cele populacije, onda polovinu planirane širine intervala poverenja (označimo je sa W) izjednačujemo sa $W = 1.96 \cdot \frac{(1-r^2)}{\sqrt{N-1}}$ a ako želimo da ta verovatnoća bude 99%, koristimo formulu: $W = 2.58 \cdot \frac{(1-r^2)}{\sqrt{N-1}}$. Iz ovih formula sada lako izračunavamo veličinu studijske grupe, tj. broj jedinica posmatranja u njoj: $N = \frac{1.96^2 \cdot (1-r^2)^2}{W^2} + 1$, za verovatnoću od 95% i $N = \frac{2.58^2 \cdot (1-r^2)^2}{W^2} + 1$, za verovatnoću od 99%.

Recimo da očekujemo da će Pirsonov koeficijent korelacije između koncentracije neke supstance i agregacije trombocita biti r = 0.4, a da je očekivana polovina širine intervala poverenja sa verovatnoćom od 95% W = 0.1. Onda bi nam trebalo ukupno jedinica posmatranja, tj. parova koncentracija supstance/efekat na agregaciju trombocita:

$N = \frac{1.96^2 \cdot (1-0.4^2)^2}{0.1^2} + 1 = \frac{3.84 \cdot (0.84)^2}{0.01} = 271$. Ako bi uzeli 10 različitih koncentracija supstance, da bismo dobili 271 jedinicu posmatranja, trebalo bi svih deset koncentracija ispitati na uzorcima krvi svake od 27 eksperimentalnih životinja (10 x 27 = 270), i još bar jednu koncentraciju na 28. pacovu. Očekivanu veličinu koeficijenta korelacije i širinu intervala poverenja procenjujemo na osnovu prethodno publikovanih studija: što je koeficijent korelacije viši a širina intervala poverenja veća, trebaće manje jedinica posmatranja, i obrnuto.

Tahifilaksija. Uvek kada se ispituje neki biološki materijal *in vitro* posle izvesnog vremena odgovori na identičan stimulus opadaju, jer se u materijalu troše energetski i drugi resursi neophodni za stvaranje odgovora. Tu pojavu nazivano tahifilaksijom, ili akutno nastalom tolerancijom biološkog materijala na stimulus. Zato je u svim studijama na biološkom materijalu *in vitro* neophodno utvrditi stepen tahifilaksije i uzeti je u obzir ga prilikom tumačenja rezultata ispitivanja raznih blokatora ili pojačivača dejstva stimulusa, kako se ne bi desilo npr. da tahifilaksiju pogrešno proglasimo za efekat nekog blokatora. Tahifilaksiju utvrđujemo posebnom serijom eksperimenata u kojoj ponovljeno izlažemo izolovani biološki preparat stimulusu bez blokatora, onoliko dugo koliko će nam kasnije trajati eksperimenti sa stimulusom u prisustvu blokatora.

Takođe treba utvrditi *brzinu i stepen opadanja životnih procesa* u izolovanom biološkom materijalu, kako se to opadanje ne bi proglasilo za posledicu dejstva stimulusa. U praksi to znači da treba sprovesti kontrolne eksperimente bez dodavanja stimulusa izolovanom biološkom preparatu, koji će trajati isto koliko traju eksperimenti sa dodatim stimulusom.

Dokumentacija. Kod izvođenja svih tipova eksperimentalnih studija, a posebno onih na izolovanom biološkom materijalu, neophodno je voditi detaljne zapise o svakom pojedinačnom eksperimentu, koji će biti datirani, čitki i

sadržavati sve relevantne podatke, kako bi se iz njih u bilo kom momentu kasnije mogao rekonstruisati tok i ishod svakog eksperimenta. Ovi zapisi imaju trojaku funkciju: oni su potvrda da smo zaista uradili eksperimente, na osnovu njih se u budućnosti mogu ponoviti eksperimenti, i omogućavaju nam da u slučaju neuspele registracije biološkog fenomena koji je predmet našeg proučavanja možemo utvrditi gde smo grešili, pa zatim to ispraviti u budućim eksperimentima. Osim zapisa koje mi sami pravimo, čuvamo i sve registracione zapise koje dobijemo tokom eksperimenta od uređaja koje koristimo. Gotove zapise treba obeležiti i arhivirati tako da se uvek lako mogu naći, a čuvaju se **trajno**.

5 EKSPERIMENTALNE KVANTITATIVNE STUDIJE NA ŽIVOTINJAMA *IN VIVO*

Životinje treba da koristimo za eksperimente samo ako je to neophodno, tj. ako na drugi način ne možemo doći do saznanja za kojim težimo. Kada to ipak činimo, treba da poštujemo tri osnovna principa koja su prihvaćena u međunarodnim okvirima: (1) princip ZAMENE, tj. kad god je moguće zameniti *in vivo* eksperimente sa *in vitro* metodama, ili eksperimente na kičmenjacima eksperimentima na beskičmenjacima; (2) princip USAVRŠAVANJA ogleda, što znači planirati istraživanje tako da dobijemo željeni odgovor sa što manje patnje eksperimentalnih životinja i izbegavajući smrt kao zavisnu varijablu (kvalitetan dizajn može smanjiti broj potrebnih životinja i izbeći njihovo veće povređivanje kroz upotrebu surogat markera kao zavisnih varijabli); (3) princip SMANJENJA BROJA eksperimentalnih životinja kroz pažljivo izračunavanje veličine minimalnog uzorka sa kojim još uvek imamo dovoljnu statističku snagu da otkrijemo efekte koje ispitujemo (Festing & Altman, 2002).

Eksperimentalne studije na životinjama mogu imati za cilj da potvrde ili opovrgnu određenu hipotezu (npr. da lek A izaziva povraćanje kod pacova), ili da utvrde određenu pravilnost u podacima koji će se dobiti iz ogleda, iz koje se kasnije može stvoriti hipoteza (npr. da ispita da li postoje dnevne varijacije u izlučivanju mokraće kod određenog soja miševa). Prvu vrstu eksperimentalnih studija nazivamo potvrđujućim ili konfirmatornim (engl. confirmatory), a drugu ispitivačkim ili eksploratornim (engl. *exploratory*). Ponekada studije mogu imati oba obeležja.

Životinje najčešće koristimo kao modele ljudskih bića, tj. eksperiment postavljamo tako da on predstavlja model nekog fiziološkog procesa u organizmu čoveka. Kad god je to moguće, model treba da bude proveren (validiran) upoređivanjem njegovih rezultata sa rezultatima dobijenim na ljudima. Na primer, ako koristimo kuniće za ispitivanje jonskih pumpi u ushodnom kraku Henleove petlje bubrega, onda je potrebno da furosemid, za koga znamo da snažno blokira ove pumpe i povećava izlučivanje mokraće kod ljudi, to isto čini i kod kunića.

Kada izvodimo eksperimente na životinjama, najbolje je da koristimo sojeve koji su ukrštanjem najbližih rođaka postali genetski gotovo identični (engl. "inbred" sojevi). Razlog za ovakav princip leži u činjenici da će varijabilnost odgovora takvih životinja biti daleko manja od varijabilnosti koja bi se dobila korišćenjem genetski nehomogenih životinja. To dalje znači da će nam biti potrebno MANJE genetski identičnih životinja za eksperimente nego genetski heterogenih, što i jeste jedan od naših ciljeva. Drugi razlog je i postojanje detaljnih podataka o genetskim i fenotipskim karakteristikama genetski homogenih sojeva, što olakšava planiranje eksperimenata i tumačenje rezultata. Kakve god sojeve da smo uzeli za našu studiju, veoma je važno da sve jedinke tretiramo na isti, standardizovan način (ista ishrana, ista dostupnost vode, režim svetlo/tama, ista temperatura i kavezi), jer će to takođe smanjiti varijabilnost odgovora koje ćemo dobiti i povećati preciznost rezultata.

U svakoj eksperimentalnoj studiji na životinjama treba jasno definisati na početku šta je to JEDINICA POSMATRANJA. Jedinica posmatranja je ono što se može izložiti ili ne izložiti nezavisnoj varijabli (stimulusu). Najčešće je jedinica posmatranja pojedinačna životinja, ali može biti i pojedinačna životinja u određenom vremenskom periodu ako se na istoj životinji planira i period izloženosti i period neizloženosti stimulusu. Takođe jedinica posmatranja može biti grupa životinja u istom kavezu, ako ćemo jedan kavez izložiti dejstvu sti-

mulusa, a drugi nećemo. Šta god da je jedinica posmatranja, postupak donošenja odluke da li će neka jedinica posmatranja biti izložena dejstvu stimulusa ili ne treba da bude sproveden po principu slučajnosti, za šta se koristi strani naziv RANDOMIZACIJA. Randomizacija se može sprovesti uz pomoć tablica slučajnih brojeva, računarskih programa koji generišu slučajne brojeve (npr. Ekscel) ili prosto izvlačenjem "iz šešira". Kada se donese odluka za svaku jedinicu posmatranja, njen tretman treba obeležiti određenom šifrom iz koje se ne može bez ključa shvatiti da li je jedinica posmatranja izložena stimulusu ili ne. Ceo postupak randomizacije, šifriranja i obeležavanja jedinica posmatranja treba da bude nezavisan od istraživača, tj. istraživači treba da budu "SLEPI" za to da li je jedinica posmatranja koju testiraju izložena stimulusu ili ne. Time se otklanja sklonost istraživača da utiču na rezultate studije, što povećava objektivnost istraživanja. Kada se randomizacija svih jedinica posmatranja uradi odjednom za sve životinje koje će biti korišćene u studiji, takav dizajn studije se naziva "***kompletan randomizacioni dizajn***".

Pošto često iz tehničkih razloga ne možemo sprovesti eksperiment na svim jedinicama posmatranja istovremeno, pojavljuje se faktor vremena koji može uticati na rezultate, tj. odgovor na stimulus u eksperimentu urađenom prvog dana možda neće biti isti kao i odgovor na isti intenzitet stimulusa 30. dana studije, jer su, ako ništa drugo, životinje tada starije za mesec dana. Zato randomizaciju ne sprovodimo jednokratno, na početku studije, nego u BLOKOVIMA koji broje onoliko jedinica posmatranja koliko ima studijskih grupa. Na primer, ako imamo samo dve studijske grupe, tj. neke jedinice posmatranja ćemo izložiti dejstvu stimulusa a druge nećemo, blok treba da ima dve jedinice posmatranja. Zato randomizaciju radimo tako što uzmemo prve dve jedinice posmatranja, pa postupkom slučajnog izbora odredimo koja će od njih biti izložena stimulusu a koja ne. Zatim sprovedemo planirano testiranje na obe jedinice posmatranja u istom vremenskom periodu. Naredni put kada budemo

sprovodili testiranje ćemo uzeti druge dve jedinice posmatranja (naredni blok) i opet postupkom randomizacije odrediti koja jedinica će biti izložena stimulusu a koja ne. Tako nastavljamo dalje sa studijom, što nam omogućava da faktor "vreme kada je izveden eksperiment od početka studije" ***ne može uticati na razliku*** u dobijenim odgovorima između grupe koja je izložena stimulusu i grupe koja to nije. Ovakav dizajn animalne studije se naziva "***blok randomizacioni dizajn***".

Kao i kod studija na biološkom materijalu *in vitro*, u studijama na životinjama *in vivo* treba na početku da definišemo šta će biti nezavisna varijabla (***stimulus***), šta zavisna varijabla (***odgovor***, ishod), a šta su nam ***zbunjujuće varijable*** koje treba da kontrolišemo kroz postavljanje eksperimentalnih uslova. Najčešće je nezavisna varijabla samo jedna, da bi se jasno uočila veza između nje i odgovora, ali ponekada možemo imati dve ili više nezavisnih varijabli (tzv. "***faktorijalni***" dizajn): npr. u slučaju tri nezavisne varijable životinje mogu biti izložene zračenju X-zracima i/ili leku A, i/ili leku B. To znači da ćemo imati 8 grupa različito tretiranih životinja: zračene X-zracima i tretirane lekom A i lekom B (I grupa), zračene X-zracima i bez leka A i B (II grupa), zračene X-zracima i tretirane lekom A ali ne lekom B (III grupa), zračene X-zracima i tretirane lekom B ali ne i lekom A (IV grupa), nezračene životinje koje primaju lek A i B (V grupa), nezračene životinje koje ne primaju ni lek A ni lek B (VI grupa), nezračene životinje koje primaju lek A ali ne i B (VII grupa) i nezračene životinje koje primaju lek B ali ne i A (VIII grupa). Kod ovakvog dizajna randomizaciju treba posebno raditi u po osnovu sve tri varijable odjednom, takođe u blokovima koji će ovde imati po 8 jedinica posmatranja. Ukoliko ima više nezavisnih varijabli od tri, postupak je isti, samo složeniji, jer ćemo imati više studijskih grupa: 4 varijable i 2 nivoa izloženosti varijable (npr. izložen ili neizložen). Ključne karakteristike faktorijalnog dizajna su da se randomizacija vrši po osnovu svih nezavisnih varijabli odjednom i da je

redosled sprovođenja eksperimenta sa svakom od jedinki izloženoj nekom od kombinacija vrednosti nezavisnih varijabli takođe potpuno slučajan.

Takozvani "***split-plot***" dizajn je sličan faktorijalnom dizajnu, ali je razlika u tome što je iz različitih razloga teško izvesti da redosled sprovođenja eksperimenata sa svakom od jedinki izloženoj nekom od kombinacija vrednosti nezavisnih varijabli bude potpuno slučajan (Kowalski & Potcner 2003). Najčešći razlog leži u tome da je teško aktivirati jednu od nezavisnih varijabli više puta. U gornjem primeru nezavisna varijabla koja se teško aktivira je X-zračenje (linearni akcelerator mora svaki put da se uključi, zagreje, nacentrira, itd.), pa bi bilo skupo i dugotrajno da prvo zračimo jednu životinju, pa sledeću da ne zračimo, pa treću po redu da zračimo, itd. Mnogo je jednostavnije da prvo randomiziramo 8 životinja na 4 koje će biti zračene i 4 koje neće; zatim da onima koje će biti zračene po slučajnom principu damo lek A, B, kombinaciju A i B ili ništa, pa da ih onda sve zračimo **odjednom**. Četiri životinje koje se zrače ovde čine jedan "plot", a druge četiri koje se ne zrače čine drugi "plot". Sada u okviru ova dva "plot"-a obavljamo randomizaciju po osnovu druge dve nezavisne varijable.

Kada su u pitanju nezavisne varijable koje se mogu dozirati po intenzitetu, treba uvek pokušati da se dokaže veza između intenziteta (doze) takve varijable i intenziteta odgovora, jer je postojanje takve veze dodatni dokaz da nezavisna varijabla zaista utiče na odgovor. Zato treba birati više intenziteta nezavisne varijable (najmanje 4), koji međusobno treba da budu jasno razdvojeni na logaritamskoj skali.

Osim tzv. "negativne kontrole", tj. jedinica posmatranja koje neće biti izložene nekoj nezavisnoj varijabli, ukoliko je moguće treba imati i tzv. "pozitivne kontrole", tj. jedinice posmatranja koje će biti izložene dejstvu kontrolne varijable za koju znamo odranije da izaziva sličan odgovor kod životinja kao i nezavisna varijabla koju ispitujemo. Na primer, ako ispitujemo da li novi lek X

(nezavisna varijabla) izaziva diurezu kod eksperimentalnih životinja, kao kontrolnu varijablu bi mogli da primenimo diuretik furosemid, za koga znamo odranije da sigurno povećava diurezu. Pozitivna kontrola nam može otkriti greške i kvarove u mernoj opremi, kao i uticaj nekih zbinjujućih varijabli koje nismo pravovremeno kontrolisali u eksperimentu.

Dizajn po principu Latinskog kvadrata.

Latinski kvadrat je ustvari tabela sa jednakim brojem kolona i redova, ispunjena simbolima kojih ima onoliko vrsta koliko ima kolona, odnosno redova. U svakom redu i u svakoj koloni se svaka od vrsta simbola može sresti samo jednom. Evo primera Latinskog kvadrata:

Slika 1. Latinski kvadrat

1	2	3	4
2	3	4	1
3	4	1	2
4	1	2	3

Dizajn po principu Latinskog kvadrata se koristi kada imamo jako varijabilne jedinice posmatranja, tako da možemo u populaciji koju istražujemo naći samo po jednu jedinicu posmatranja sa određenom kombinacijom karakteristika, tj. nezavisne i zbunjujućih varijabli. Na primer, ako treba da ispitamo 6 različitih lekova na pacovima koji imaju 6 različitih dijeta i 6 različitih dnevnih unosa tečnosti. Nezavisna varijabla je lek koji se daje, i mi želimo da vidimo njihove efekta na pacovima, ali nam se tu mešaju dve zbunjujuće varijable (dijeta i unos vode) koje mogu da utiču na odgovor pacova na lekove. Pošto imamo $6^3 = 216$ kombinacija dijeta, unosa vode i lekova, nije moguće napraviti toliko mnogo grupa životinja koje bi se ispitivale po faktorijalnom

dizajnu iz očiglednih tehničkih razloga. Tada pribegavamo dizajnu po principu Latinskog kvadrata u kome ćemo imati samo 6 x 6 = 36 jedinica posmatranja sa različitim kombinacijama nezavisne i zbunjujućih varijabli (lekovi koji se ispituju su označeni sa slovima A, B, C, D, E i F:

Slika 2. Primer dizajna po principu Latinskog kvadrata

	Dijeta 1	Dijeta 2	Dijeta 3	Dijeta 4	Dijeta 5	Dijeta 6
Unos vode 1	A	B	C	D	E	F
Unos vode 2	B	C	D	E	F	A
Unos vode 3	C	D	E	F	A	B
Unos vode 4	D	E	F	A	B	C
Unos vode 5	E	F	A	B	C	D
Unos vode 6	F	A	B	C	D	E

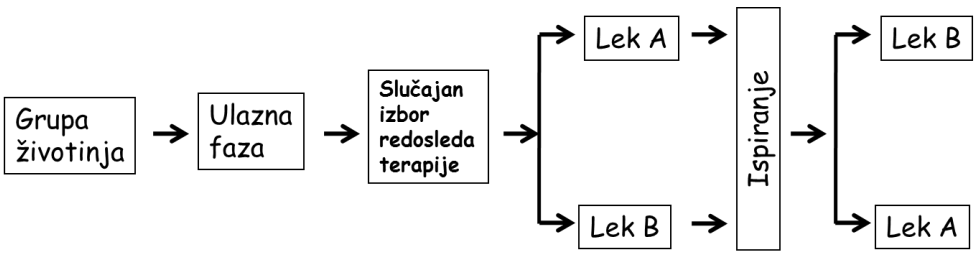
Dakle, svaka od jedinica posmatranja će imati različitu kombinaciju dijete, unosa vode i leka, što će nam omogućiti da uz odgovarajuću statistiku (analiza varijanse) izdvojimo efekat nezavisne varijable na odgovor životinja od efekta ovih dvaju zbunjujućih varijabli. Međutim, u gornjoj tabeli lekovi nisu uneti po slučajnom principu, već po abecednom redu. Da bismo izbegli takvu sistematsku grešku, potrebno je da izvršimo randomizaciju prvo kolona, a zatim i redova, čime ćemo postići da kombinacija lek-dijeta-unos vode bude zaista slučajna.

Ukršteni dizajn (engl. "crossover")

U studiji sa ukrštenim dizajnom se grupa životinja deli po slučajnom principu u dve podgrupe, jedna prima lek (ili neki drugi tretman) A, a druga lek (ili neki drugi tretman) B. Kada se završi period praćenja dejstva lekova,

napravi se pauza kako bi se organizam životinja oslobodio tih lekova (faza "ispiranja"). Potom podgrupa životinja koja je primala lek A, prima lek B, a podgrupa koja je bila na leku B, prima sada lek A. Ukršteni dizajn omogućava da se otkloni uticaj proteklog vremena na ishode lečenja, tj. da se otkloni mogućnost preklapanja spontanog poboljšanja sa dejstvom leka. Period ispiranja mora biti dovoljno dugačak (obično 2 nedelje) da se izgubi efekat lekova i stanje životinje vrati na nivo iz ulazne faze. Time se sprečava "prenošenja" efekta lekova iz prve u drugu fazu studije. Periodi praćenja moraju biti dovoljno dugi da se efekti jasno primete. Ovakav ukršteni dizajn, gde imamo samo dva različita tretmana, dva redosleda primene tretmana i dva perioda tretmana je najjednostavniji vid (naziva se još i Grizzle-ov ili Hills-Armitage dizajn, prema autorima koji su prvi opisali njegovu statističku obradu). Ukršteni dizajn može biti daleko složeniji ako koristimo tri ili više tretmana, koji se koriste u tri ili više perioda, pri čemu svaka od jedinica posmatranja može dobiti tretman prema tri ili više redosleda. Za raspoređivanje ispitivanih životinja po tretmanima, periodima i redosledima kod složenijeg ukrštenog dizajna koristimo Latinske kvadrate.

Slika 3. Grafički prikaz najjednostavnijeg ukrštenog dizajna



Međutim, bez obzira što postoji period "ispiranja" kod ukrštenog dizajna, ipak je efekat na zavisnu varijablu kod svake jedinice posmatranja funkcija nekoliko parametara: samog tretmana, perioda, redosleda vrste tretmana i slučajnih efekata (Gerry et al, 2002). Matematički se to može prikazati

na sledeći način: $y_{ijk} = \mu + a_i + b_{ij} + \gamma_k + \tau_d + \lambda_c + e_{ijk}$, gde je y_{ijk} ukupni efekat na zavisnu varijablu, μ je srednja vrednost efekta, a_i je efekat redosleda primene tretmana, γ_k je efekat perioda u kome se sprovodi tretman, τ_d je direktan efekat samog tretmana, λ_c je dejstvo prenošenja efekta prethodnim tretmanom na novi tretman, b_{ij} je slučajni efekat same jedinice posmatranja, i e_{ijk} je slučajna greška (i,k,d,c = 1,2; j = 1,2,... r_i). Vrednosti ovih parametara (tretmana, perioda, redosleda i prenošenja efekta) se mogu izračunati ako se stvarno zabeležena vrednost ukupnog efekta upoređuje sa očekivanom vrednošću ukupnog efekta kada ovi parametri nemaju uticaja. Kod najjednostavnijeg ukrštenog dizajna uticaj prenošenja efekta se ne može izračunati ako se ne pretpostavi da neki od preostalih parametara nema uticaja, što je njegova mana u odnosu na kompleksniji ukršteni dizajn. Sam proces izračunavanja pomenutih parametara je van obima ove knjige.

Sekvencijalni dizajn

Jedan od načina da se smanji broj potrebnih životinja za eksperimentalnu studiju jeste da se upotrebi sekvencijalni dizajn (Waterton et al 2000; Johnstone 2010). Inače je sekvencijalni dizajn stvoren za vreme drugog svetskog rata sa ciljem da se što ranije otkriju serije proizvedene municije ili oružja koje su lošeg kvaliteta, posle čije eliminacije bi ukupan kvalitet proizvedene municije ili oružja porastao. U vreme kada je stvoren, sekvencijalni dizajn je bio tretiran kao vojna tajna!

Suština sekvencijalnog dizajna je da se eksperimenti sprovode na malim grupama eksperimentalnih životinja (obično 6 u grupi) po hronološkom redosledu, pri čemu se posle svake grupe sprovodi statistička analiza na svim do tada ispitivanim životinjama; onog momenta kada se postigne statisti-

čka značajnost efekta nezavisne varijable tj. stimulusa, dalji eksperimenti se obustavljaju, a efekat nezavisne varijable (stimulusa) se smatra dokazanim. Pre početka studije potrebno je da za svaki broj testiranih životinja izračunamo granične vrednosti statističkog testa iznad kojih će se efekat stimulusa smatrati značajnim. To činimo na osnovu verovatnoće greške prvog tipa, željene snage studije i očekivane veličine efekta stimulusa na zavisnu varijablu, uzimajući u obzir standardnu devijaciju pri merenju zavisne varijable.

Slika 4. Grafički prikaz sekvencijalnog dizajna.

Glavna prednost sekvencijalnog dizajna je smanjenje broja potrebnih eksperimentalnih životinja. Međutim, ovaj dizajn ima i određene nedostatke, zbog kojih ga ne treba koristiti u nekim situacijama: (1) nije praktičan za hronične studije, gde se efekat na primenjeni stimulus javlja posle dužeg vremenskog perioda (npr. nekoliko nedelja); (2) ako se vremenom menja intenzitet odgovora životinja na stimulus (npr. zbog nivoa stresa koji raste što se životinje duže drže u pripremnim kavezima); (3) ako aktivnost stimulusa opada sa vremenom (npr. radioaktivnost radiofarmaka); (4) zahteva besprekornu organizaciju rada, jer posle svake male grupe eksperimenata treba izmeriti rezultate i uraditi statističku obradu, tako da slabo organizovane, malobrojne grupe istraživača ne bi trebalo da ga koriste.

Dizajn sa ponovljenim merenjima

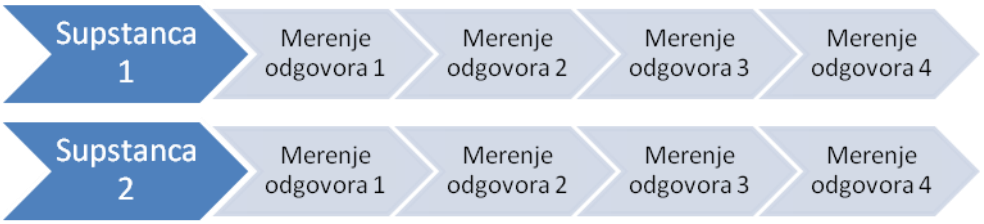
Kod ove vrste dizajna ključna karakteristika je da se na istoj jedinici posmatranja (eksperimentalnoj životinji) obavlja veći broj merenja iste zavi-

sne varijable, tj. odgovora (Sullivan 2008). Veći broj merenja se najčešće sprovodi u određenim vremenskim intervalima, jer se prati efekat nezavisne varijable tokom vremena, ali se može obaviti i samo u jednom trenutku, ako se istovremeno zavisna varijabla izmeri više puta. Prilikom statističke obrade rezultata eksperimenata sa ovakvim dizajnom nephodno je da se uzme u obzir da postoji zavisnost, tj. korelacija između rezultata merenja zavisne varijable (odgovora) kod iste jedinice posmatranja, tj. iste eksperimentalne životinje.

Ako je studija dizajnirana tako da postoji samo jedna vrednost nezavisne varijable (npr. sve eksperimentalne životinje se izlažu dejstvu iste supstance), onda se rezultati analiziraju pomoću ***jednofaktorske analize varijanse***, uzimajući u obzir postojanje korelacije između rezultata merenja zavisne varijable kod iste jedinice posmatranja. Efekat testirane vrednosti nezavisne varijable na zavisnu će biti statistički značajan ukoliko je izračunata vrednost F testa veća od graničnih vrednosti za verovatnoću nulte hipoteze od 0.01 ili 0.05. F vrednost se dobija kada se varijacija rezultata merenja usled ponavljanja merenja kod iste jedinice posmatranja podeli sa rezidualnom varijacijom merenja.

S druge strane, ako postoje dve vrednosti nezavisne varijable (npr. polovina eksperimentalnih životinja se izlaže jednoj supstanci, a polovina drugoj), pa se zatim kod iste životinje zavisna varijabla meri više puta, onda se rezultati analiziraju pomoću ***dvofaktorske analize varijanse***, takođe uzimajući u obzir postojanje korelacije između rezultata merenja zavisne varijable kod iste jedinice posmatranja. Kod ovakve statističke obrade, izračunavaju se tri F vrednosti: (1) odnos varijabilnosti zbog vrste tretmana (supstance) i rezidualne varijabilnosti; (2) odnos varijabilnosti zbog ponavljanja merenja kod iste jedinice posmatranja i rezidualne varijabilnosti, i (3) odnos varijabilnosti zbog interakcije tretman/ponavljanje merenja i rezidualne varijabilnosti.

Slika 5. Grafički prikaz dizajna sa dve vrednosti nezavisne varijable, tj. dva tretmana, i ponovljenim merenjima kod istih jedinica posmatranja (životinja).



Dizajn sa nekompletnim blokom

Ovakav dizajn mora da se primeni u situaciji kada imamo veći broj vrednosti nezavisne varijable (npr. veći broj tretmana) nego što je veličina jednog bloka u studiji (Armitage et al, 2008). Na primer, recimo da imamo 7 različitih lekova koje ispitujemo, a raspolažemo samo jednom mašinom koja ima četiri mesta za istovremeno testiranje 4 životinje: dakle jedan eksperimentalni blok je 4, tj. možemo istovremeno primeniti samo 4 od 7 lekova. Eksperimentalni blok će biti NEKOMPLETAN, jer nismo u mogućnosti da istovremeno testiramo svih 7 lekova, već samo 4 od njih. Kod ovakvog dizajna neophodno je da se poštuje sledeći princip: u jednom bloku se jedan par vrednosti nezavisne varijable (npr. jedan par tretmana) može pojaviti samo jednom; to omogućava da se statističkom obradom proceni značajnost dejstva svake od vrednosti nezavisne varijable.

Dizajn sa nekompletnim blokom se naziva balansiranim, ako se jedan par vrednosti nezavisne varijable javi u blokovima isti broj puta (pri čemu se u jednom bloku javlja samo jedanput), i ako se svaka od vrednosti nezavisne varijable (tj. svaki od tretmana) javi isti broj puta u studiji.

Suština statističke obrade podataka o vrednosti zavisne varijable dobijenih iz studija sa nekompletnim blokovima je u prilagođavanju srednjih vrednosti zavisne varijable (dobijenih kao odgovor na svaki od tretmana) sistematskim razlikama između blokova. Statistička obrada studija sa inkompletnim blokom je van obima ove knjige, a detalji o njoj se mogu naći u knjizi Cochran-a i Cox-a "Experimental designs" izdatoj prvi put 1957. godine.

Da bismo obezbedili da se u svakom nekompletnom bloku nalazi samo jedna vrednost nezavisne varijable (tretman) i da se parovi tretmana ne ponavljaju u istom bloku, možemo koristiti nekompletni Latinski kvadrat pri planiranju eksperimenata. Na sledećem primeru se vidi primena nekompletnog Latinskog kvadrata u studiji koja ima 6 vrednosti nezavisne varijable (tj. 6 različitih tretmana, označenih brojevima od 1 do 6), koje se primenjuju u nekompletnim blokovima od tri jedinice posmatranja (u tabeli je prikazano samo prvih 7 blokova):

Slika 7. Primena nekompletnog Latinskog kvadrata.

Tretmani	Blok 1	Blok 2	Blok 3	Blok 4	Blok 5	Blok 6	Blok 7
A	1	2	3	4	5	6	1
B	2	3	4	5	6	1	2
C	3	4	5	6	1	2	3

Varijanta dizajna sa nekompletnim blokom koja koristi nepotpuni Latinski kvadrat se naziva "nepotpuni Latinski kvadrati" ili ***"Judenovi kvadrati"*** (engl. "Youden squares").

6 EKSPERIMENTALNE KVANTITATIVNE STUDIJE NA LJUDIMA *IN VIVO* - KLINIČKE EKSPERIMENTALNE STUDIJE

Kliničke eksperimentalne studije, koje se često u literaturi kratko nazivaju "kliničkim studijama" (engl. *"clinical trials"*), predstavljaju najpouzdaniji metod za utvrđivanje postojanja i veličine efekta nezavisne varijable na zavisnu. Da bi novi lek ili novi metod lečenja mogli da se šire koriste, neophodno je da se kroz kliničke eksperimentalne studije dokažu njihova efikasnost (značajan uticaj na zavisnu varijablu tj. odgovor) i bezbednost (odsustvo neželjenih dejstava, tj. štetnih efekata na jedinice posmatranja, tj. na pacijente). Jedinica posmatranja u kliničkim studijama je čovek – dobrovoljac (ispitanik), koji može biti oboleo (tada ga nazivamo "pacijent") ili zdrav. Obično se uz naziv "kliničke studije" u literaturi još dodaju pridevi "KONTROLISANE", "RANDOMIZIRANE", "DVOSTRUKO SLEPE" i "MULTICENTRIČNE", koji treba da ukažu na njihov visok metodološki kvalitet.

KONTROLISANE kliničke studije su one koje imaju najmanje dve grupe ispitanika: jednu koja je tretirana novim lekom ili metodom lečenja (tzv. eksperimentalna grupa), i drugu koja ne prima nikakvu terapiju ili prima do tada najefikasniji lek odnosno metod lečenja. Ta druga grupa ispitanika je zapravo kontrolna grupa, koja služi samo za poređenje sa eksperimentalnom grupom, odnosno treba da omogući da se uoči efekat novog leka ili nove metode lečenja na zavisnu varijablu u eksperimentalnoj grupi. Pomoću precizno definisanih kriterijuma za uključivanje i kriterijuma za isključivanje ispitanika eliminiše se uticaj svih poznatih zbunjujućih varijabli na zavisnu varijablu, jer će vrednosti zbunjujućih varijabli u eksprimentalnoj i kontrolnoj grupi biti

iste. U idealnoj situaciji eksperimentalna i kontrolna grupa se razlikuju samo po vrednosti nezavisne varijable, tako da se opservirani efekat na zavisnu varijablu može direktno upoređivati između grupa, bez prethodnog prilagođavanja. Ukoliko ispitanici u kontrolnoj grupi ne primaju nikakvu terapiju, njima se ipak treba dati nešto što nema nikakvo dejstvo u organizmu, ali po svom izgledu, mirisu i ukusu izgleda kao novi lek ili novi metod lečenja. To "nešto" nazivamo PLACEBO, tj. to je supstanca bez farmakološkog ili fiziološkog dejstva u organizmu čoveka koja spolja po svemu podseća na novi lek. Placebo je neophodno koristiti u kliničkim studijama, kako bi se isključio efekat samog lečenja na zavisnu varijablu, poznat pod nazivom "***placebo efekat***". Ljudska bića reaguju povoljno na sam postupak lečenja, jer njihova vera u efikasnost leka dovodi do fizičkih promena u organizmu koje se suprotstavljaju oboljenju. Placebo efekat je izuzetno veliki – dosadašnja istraživanja su pokazala da i do 40% efekta bilo kog leka predstavlja placebo efekat, tj. efekat koji nije vezan za mehanizam dejstva samog leka. Korišćenjem placeba u kontrolnoj grupi mi postavljamo ispitanike u obe grupe u istu situaciju, tj. vera u izlečenje će biti prisutna u obe grupe, pa se razlika u opserviranim efektima novog leka na zavisnu varijablu u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi može pripisati samo novom leku ili novom metodu lečenja, a ne i postupku lečenja. U kontrolnoj grupi se placebo koristi kad god je to moguće; međutim, ima situacija kada je primena placeba u kontrolnoj grupi etički neopravdana, jer postoji delotvorna stara terapija tj. lek, bez koga će kod pacijenata doći do pogoršanja njihovog oboljenja. Tada umesto placeba koristimo taj stari, efikasni lek, ali ga za studiju pripremamo u obliku koji je identičan sa oblikom u kome se nalazi novi lek, tako da pacijenti ne mogu znati da li uzimaju novi ili stari lek ("***zaslepljeni***" su). Pacijenti treba da budu "slepi" za to da li primaju stari lek (ili placebo) ili novi lek, kako bi njihova vera u izlečenje bila ista u obe grupe, čime se izjednačava efekat samog postupka lečenja na zavisnu varijablu u obe grupe.

Ako pacijenti zbog identičnog izgleda novog i starog leka (ili placeba) ne znaju da li unose novi ili stari lek (ili placebo), dok je to poznato istraživačima koji sprovode studiju, takva studija se naziva JEDNOSTRUKO SLEPA. DVOSTRUKO SLEPA studija će biti ona kod koje ni pacijenti ni istraživači ne znaju koji tretman je dodeljen kom ispitaniku. To se postiže pripremom studijskih lekova i/ili placeba nezavisno od istraživača, u posebnoj ustanovi, a zatim šifriranjem pripremljenih pakovanja leka, koja tako šifrovana dolaze do istraživača i pacijenata. Ključ za šifru se čuva zapečaćen do kraja studije, kada se otvara, i tek tada, kada su svi opservirani efekti lekova već zabeleženi, istraživači i ispitanici postaju svesni ko je dobijao koji lek. Kroz dvostruku slepost se sprečava namerni i nenamerni uticaj istraživača na merenje efekta lekova na zavisnu varijablu i na zapisivanje rezultata, odnosno otklanja se "sklonost" istraživača da uvećaju efekat novog leka ili umanje efekat starog leka. Svesno ili nesvesno, istraživači uvek žele da dokažu da je novi lek efikasniji ili bar isto efikasan kao i stari, i zato je neophodno da se otkloni njihov uticaj na procenu efekta nezavisne varijable na zavisnu.

Poseban vid dvostruko slepe studije se javlja kada se novi i stari lek primenjuju različitim putem. Tada moramo primeniti tzv. Tehniku "***dvostruke lutke***" (engl. "*double-dummy*"), tj. moramo pripremiti placebo i za novi i za stari lek. Na primer, ako se novi lek primenjuje kao intramuskularna injekcija, a stari kao tableta, onda će pacijenti u eksperimentalnoj grupi primiti intramuskularnu injekciju sa novim lekom i tabletu sa placebom, a pacijenti u kontrolnoj grupi intramuskularnu injekciju sa placebom i tabletu sa starim lekom. U takvoj situaciji ni pacijenti, ni istraživači neće znati koji pacijent prima novi, a koji stari lek.

RANDOMIZIRANA je klinička studija kod koje se jedinicama posmatranja, tj. ispitanicima tretmani dodeljuju po principu slučajnosti. Princip slučajnosti se i ovde može sprovesti uz pomoć tablica slučajnih brojeva, računarskih

programa koji generišu slučajne brojeve (npr. Ekscel) ili prosto izvlačenjem "iz šešira". U kliničkim studijama pacijenti sukcesivno ulaze u studiju, tako da se randomizacija vrši u blokovima, redosledom kako se pacijenti uključuju. Na primer, ako u studiji postoje dva tretmana, tj. stari i novi lek, randomizacija se može vršiti u blokovima po 4 ispitanika. Kada se uključe prva 4 ispitanika, metodom slučajnog izbora će dva ispitanika od njih biti određena da dobiju novi lek, a preostala dva stari. Postupak će se ponoviti kada se naredna 4 ispitanika uključe u studiju, i tako dalje dok se ne postigne planirani broj ispitanika u obe studijske grupe. Ovakav postupak randomizacije se naziva "blok randomizacija".

MULTICENTRIČNE su kliničke studije koje se sprovode u većem broju različitih centara ispitivanja (zdravstvenih ustanova), često smeštenih u većem broju različitih zemalja (tada takve studije nazivamo i multinacionalnim). Multicentričnost doprinosi objektivnosti kliničke studije, jer se uključuje veći broj istraživača koji rade nezavisno jedni od drugih u različitim uslovima, a takođe se studije sprovode brže, jer je priliv ispitanika daleko veći nego kada bi se radilo samo u jednom centru. Kod unicentričnih studija uticaj pojedinih istraživača (zbog razlika u komunikativnosti, raspoloženju, kliničkoj veštini i dr.) na ispitanike može biti toliki da "njihovi" ispitanici prođu daleko bolje ili gore od ostalih; u multicentričnim studijama u proseku svaki istraživač ima daleko manje "svojih" ispitanika od istraživača u unicentričnim studijama, pa se uticaj ličnosti i kompetencija pojedinačnih istraživača na efekte tretmana smanjuje.

Za razliku od studija na eksperimentalnim životinjama, gde istraživači mogu da primene sve oblike dizajna, uključujući i najkompleksnije, kliničke studije su ograničene činjenicom da se ispitanici postepeno uključuju u studiju i da se podaci o efektima tretmana na zavisnu varijablu prikupljaju kroz duži vremenski period. Zato se za kliničke studije koriste najjednostavnije vrste

dizajna. Pošto se u kliničkim studijama jako mnogo pažnje posvećuje bezbednosti pacijenata, one se sprovode u tri faze, tj. postepeno, kako bi se što ranije uočili eventualni ozbiljni neželjeni efekti novog leka i smanjio ukupan broj osoba izloženih eventualno toksičnim lekovima. ***Studije I faze*** se najčešće sprovode na zdravim ispitanicima koji se dobrovoljno prijave za učešće u studiji. Broj uključenih ispitanika je vrlo mali (maksimalno 50), i svi su izloženi samo novom leku, tj, ne postoji kontrolna grupa. Pored podataka o farmakokinetici novog leka kod zdravih osoba, iz studija I faze treba da dobijemo podatak o maksimalnoj podnošljivoj dozi (MPD), tj. dozi leka koju pacijenti mogu uzimati a da ne dođe do značajnih neželjenih dejstava. MPD se može odrediti na dva načina: (1) počinje se od male doze koja se ispita na maloj grupi od 2-4 ispitanika, pa se zatim veća doza ispita na sledećoj grupi od 2-4 ispitanika i tako dalje, dok se dođe do MPD; (2) kod istog ispitanika se daju sve veće i veće doze postepeno, dok se ne dođe do njegove MPD: međutim, posle svake primenjene doze i odgovora dobijenog na nju uz pomoć statističkog modela se procenjuje MPD, i čim procena postane dovoljno pouzdana prekida se dalje povećanje doza kako se pacijent ne bi izlagao nepotrebnom riziku.

Studije II faze se mogu podeliti u studije faze IIA i faze IIB. ***Studije faze IIA*** kao i studije faze I nemaju kontrolnu grupu, tj. svi uključeni ispitanici primaju novi lek. Međutim, za razliku od studija faze I koje se izvode na zdravim ispitanicima, studije IIA uključuju obolele ljude, tj. pacijente. Cilj studija faze IIA je da utvrdi da li novi lek ima dovoljno veliki željeni klinički efekat da bi imalo smisla da se produži sa kliničkim ispitivanjima. Broj pacijenta uključenih u studije faze IIA je mali kao i kod studija faze I, i često se koristi *sekvencijalni dizajn* (videti kod studija na životinjama) kako bi se studija obustavila u slučaju slabog odgovora i sprečilo nepotrebno izlaganje većeg broja pacijenata neefikasnom leku.

Studije faze IIB se izvode na 50-100 pacijenata, i one obavezno uključuju *paralelni dizajn*, tj. postoje najmanje dve grupe pacijenata: jedna koja prima novi lek, i druga koja prima placebo ili do tada najefikasniji lek. Studije faze IIB se ustvari malo razlikuju od studija faze III, pre svega u broju pacijenata, tako da gotovo sve metodološke karakteristike koje važe za studije faze III, važe i za studije faze IIB.

Studije faze III se izvode na dovoljnom broju pacijenata da bi se otkrila razlika u efektu novog i starog leka na zavisnu varijablu, tj. broj pacijenata planiramo na osnovu željene snage studije. Kod njih se u principu uvek koristi paralelni dizajn; samo ako je efekat leka kratkotrajne prirode i lako se opservira, može se umesto paralelnog dizajna koristiti ukršteni dizajn (videti studije na životinjama), gde pacijenti prvo primaju jedan od studijskih lekova, a zatim posle perioda ispitanja, drugi lek. Većinom studije faze III imaju za cilj da pokažu da je novi lek efikasniji od starog; međutim, ponekada je cilj samo da se pokaže da novi lek nije manje efikasan od starog. Takve studije nazivamo "ekvivalentnim" ili "ne-inferiornim", i one u principu zahtevaju znatno veći broj ispitanika da bi imale potrebnu statističku snagu. Prilikom dizajniranja studija faze III preporučuje se ***pragmatičan pristup***, tj. studiju treba postaviti tako da u najvećoj meri liči na rutinsku praksu lečenja odgovarajućeg oboljenja, jer će rezultati takve studije biti daleko primenjiviji u kliničkoj praksi od tzv. eksplanatornih studija, koje po kompleksnosti varijabli i studijskih procedura podsećaju na eksperimente na životinjama i imaju ambiciju da utvrde i patofiziološke osnove dejstva novog leka. Kriterijumi za uključivanje i isključivanje pacijenata *ne treba da budu previše strogi*, kako se ne bi suviše suzio izbor pacijenata i otežalo pronalaženje dovoljnog broja ispitanika; ako imamo puno ispitanika u studiji, koji imaju različite karakteristike, uvek možemo da analiziramo podgrupe koje čine homogeniji pacijenti i da dođemo do odgovarajućih zaključaka, dok nam se sa homogenim, ali malim i jedinim uzorkom

može dogoditi da potpuno promašimo efekat novog leka koji možda postoji kod pacijenata sa drugačijim karakteristikama.

Kada se pravi plan istraživanja za kliničku studiju, treba poštovati određenu strukturu, tj. plan treba da ima sledeće delove: (1) uvodni deo u kome se sumira ono što se do sada zna o lekovima koji će se koristiti u studiji i o samom oboljenju koje se leči; (2) cilj i hipoteze studije; (3) kriterijumi za uključivanje i isključivanje ispitanika, tj. opis studijske populacije; (4) dozni režimi za novi i stari lek ili placebo, i dužina praćenja pacijenata; (5) opis nezavisnih i zavisnih varijabli; (6) opis procedure randomizacije; (7) proračun potrebne veličine studijskih grupa; (8) procedure monitoringa pacijenata (kad su vizite i šta se meri i beleži tokom njih); (9) statističke metode čija upotreba se planira po prikupljanu podataka; (10) etička pitanja vezana za studiju (kom etičkom odboru se podnosi plan istraživanja na odobravanje, koje međunarodne dokumente o etici kliničkih istraživanja će poštovati istraživači; (11) tekst informacije za pacijente, formular pristanka pacijenta i procedura dobijanja pristanka pacijenta za učešće u studiji; (12) administrativna i finansijska pitanja vezana za studiju. Ovako detaljan plan kliničke studije se često naziva PROTOKOL.

Osim opisa glavne nezavisne varijable (primena novog ili starog leka), u kliničkim studijama treba planirati prikupljanje ***osnovnih karakteristika pacijenata***: demografski podaci (pol, starost, telesna težina, visina, zanimanje, obrazovanje) i podaci o medicinskim pitanjima (tačna dijagnoza, faza ili težina bolesti, konkomitantni tretman, prethodni tretman, dotadašnje hirurške intervencije i sl.). Posebno treba definisati zavisne varijable, ili ***ishode*** (engl. *outcomes*). Ishodi mogu biti *klinički* (smrtni ishod odnosno preživljavanje, kliničko izlečenje ili poboljšanje, simptomi koje pacijenti ocenjuju pomoću skala ili upitnika) i *laboratorijski* (normalizacija laboratorijskih parametara, eradikacija mikroorganizma-prouzrokovača i dr.). Posebnu vrstu ishoda čini *kvalitet*

života, tj. ocena samih pacijenata koliko su funkcionalno sposobni, koliko pate, kakva im je interakcija sa društvom i sl. Kvalitet života se obično sumarno iskazuje ocenom na skali od 0 do 1, gde je 0 najniži kvalitet života (obično se njome ocenjuje smrtni ishod), a 1 najviši (puno zdravlje). Kvalitet života se najčešće meri posebnim upitnicima, koji mogu biti **generički**, ako se mogu primeniti kod svih pacijenata bez obzira na bolest od koje se leče, ili **specifični**, ako se mogu primeniti samo kod pacijenata koji imaju određeno oboljenje ili grupu oboljenja. Svako pitanje u upitnicima se ocenjuje, a zatim se te ocene sumiraju i transformišu, tako da se rezultat svakog pacijenta na upitniku kao celini oceni jedinstvenom ocenom od 0 do 1. U poslednje vreme se kvalitet života kombinuje sa dužinom preživljavanja pacijenata, pa se kao ishod uzima ***preživljavanje prilagođeno za kvalitet***, tj. koliko dugo bi pacijent preživeo u apsolutnom zdravlju, sa kvalitetom života od 1 ili 100%. Na početku kliničke studije ipak treba izdvojiti najvažnije ishode kao ***primarne***, dok se svi ostali onda smatraju kao sekundarni. Potrebna veličina studijskih grupa se onda izračunava na osnovu očekivane razlike u primarnim ishodima.

Proračun neophodne veličine studijskih grupa je takođe neophodno napraviti prilikom izrade protokola kliničke studije. Proračun se obavlja na isti način kao i kod drugih vrsta studija (npr. na životinjama ili na materijalu *in vitro*), o čemu je već bilo reči u poglavlju „Uzorak“.

Postupak randomizacije koji je opisan na početku ovog poglavlja može biti neadekvatan ukoliko neke osnovne karakteristike pacijenata imaju veliki uticaj na ishod lečenja. Na primer, pol ili starost pacijenta mogu značajno uticati na ishod lečenja neke bakterijske infekcije, pa bi različita zastupljenost polova ili različita starost pacijenata u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi mogla uticati na rezultate i zamagliti ili naizgled pojačati efekte samih lekova. Zato se prilikom randomizacije koriste tehnike koje treba da obezbede da grupe budu balansirane, tj. ujednačene u pogledu važnih osnovnih karakteris-

tika pacijenata. Prva tehnika koja se koristila je tzv. ***ograničena randomizacija*** (naziva se još i „permutovani blokovi").Kod ove tehnike randomizacija se vrši u okviru određenih slojeva (stratuma) pacijenata. Na primer, ako želimo da ujednačimo grupe po starosti i polu, formiraćemo 4 stratuma: žene mlađe od 65 godina, muškarci mlađi od 65 godina, žene starije od 65 godina i muškarci stariji od 65 godina. Sada u okviru svakog stratuma vršimo randomizaciju u blokovima od po 4 ili više pacijenata, čime ćemo obezbediti sličnu zastupljenost polova i distribuciju starosti u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi. Tehnika ograničene randomizacije dobro funkcioniše ako ima malo karakteristika pacijenata koje utiču na ishod, tj. ako je broj stratuma mali; kod velikog broja stratuma neki od njih će biti toliko mali da neće moći da se sprovede adekvatna randomizacija.

Drugi metod za ostvarivanje ujednačenosti studijskih grupa u pogledu osnovnih karakteristika pacijenata je postupak ***minimizacije neujednačenosti***. Kod ovog metoda kod svakog novouključenog pacijenta u studiju uzimaju se u obzir istovremeno sve osnovne karakteristike koje treba da budu ujednačene,i izračunava se neujednačenost koja će nastati između grupa za svaku osnovnu karakteristiku ako pacijent bude randomiziran u eksperimentalnu ili u kontrolnu grupu. Zatim se donosi ona odluka o svrstavanju pacijenta, kojom će se izazvati manja neujednačenost.

Gubitak pacijenata pre kraja studije

Veliki problem svih kliničkih studija, posebno onih koje traju duže, je gubitak pacijenata, tj. pojava da jedan deo pacijenata napusti studiju pre njenog kraja iz različitih razloga. Pošto su svi učesnici u studiji bili randomizirani u pogledu izbora tretmana, ako bi se eksperimentalna i kontrolna grupa upoređivale samo na osnovu rezultata pacijenata koji su kompletno završili stu-

diju (tzv. analiza "***po protokolu***"), rezultat bi bio pod uticajem faktora čiji efekat nije moguće proceniti (razlozi za napuštanje studije), tj. rezultat ne bi odrazio stvarnu razliku u efektima novog i starog tretmana (leka). Da bi se umanjio uticaj tih faktora, u analizu koja upoređuje efekte tretmana u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi se uključuju osim pacijenata koji su kompletno završili studiju i svi ostali pacijenti, do momenta kada su napustili studiju. Takav vid analize se naziva "***analiza po nameri da se leči***" (engl. "*intention-to-treat*"), i ona danas predstavlja standard za kliničke studije.

Podaci koji nedostaju

I kod pacijenata koji završe studiju često nedostaju podaci sa pojedinih poseta lekaru (prosto pacijenti ne dođu na neku od studijskih vizita), tako da su podaci o pojedinim zavisnim varijablama (ishodima) nekompletni. Ukoliko je u pitanju podatak koji se inače prikuplja samo jednom ili dva puta u toku studije, najbolje je u takvoj situaciji isključiti pacijenta iz statističke obrade i jasno to naglasiti u izveštaju o rezultatima studije. Ako međutim nedostaje samo jedno merenje iz niza merenja zavisne varijable koja se sprovode na svakoj viziti, tj. puno puta u toku studije, onda je moguće upotrebiti jednu od dve tehnike za dopunu nedostajućih podataka: (1) vrednost poslednjeg prethodnog merenja dodeliti nedostajećem merenju, i (2) dodeliti odgovor kakav je na placebo nedostajućem merenju, tj. uzeti kao da lek u tom momentu nije delovao. Prva tehnika daje dobre rezultate ako su inače varijacije u vrednosti merenja zavisne varijable od vizite do vizite male, a druga tehnika se više primenjuje u slučaju velikih varijacija. Ipak, treba reći da zbog uvođenja sistematske greške dopunu nedostajućih podataka radimo samo ako je to apsolutno neophodno, i da je najbolje izbeći takvu situaciju pažljivim planiranjem i sprovođenjem kliničke studije.

Pacijenti koji ne uzimaju studijski lek kako je propisano

Jedan deo pacijenata u kliničkoj studiji neće uopšte uzimati studijski lek, ili neće poštovati dozni režim kako je propisano. Vrednosti ishoda takvih pacijenata mogu omesti utvrđivanje da li postoji razlika u ishodu između eksperimentalne i kontrolne grupe, pa je zato neophodno proceniti statistički kakav je stvarni efekat lekova kod pacijenata koji su poštovali dozni režim. *Kada su u pitanju pacijenti koji nisu uopšte uzimali lek*, onda se prvo koncentrišemo na pacijente u eksperimentalnoj grupi koji su uzimali lek kako je propisano, i utvrdimo koji procenat takvih pacijenata je povoljno reagovao na novi lek. Zatim pravimo procenu koliko bi takvih pacijenata imalo povoljnu reakciju da su bili u kontrolnoj grupi, tj. da su primali stari lek, i najzad upoređujemo opservirani procenat povoljne reakcije na novi lek sa procenjenim procentom povoljne reakcije na stari lek. *U situaciji kada se pacijenti samo nisu pridržavali propisanog doznog režima*, pridržavanje doznom režimu (komplijansa) se pretvori u kontinualnu varijablu – procenat doznog režima koji je poštovan. Zatim se pomoću metoda multiple linearne regresije razlika u vrednosti ishoda između eksperimentalne i kontrolne grupe izrazi kao funkcija osnovnih karakteristika pacijenata i komplijanse, odakle je lako proceniti koji je efekat pune komplijanse.

Sekvencijalna analiza

Da bi se smanjio ukupan broj pacijenata koji će biti izloženi dejstvu novog leka, a da se ipak dođe do zaključka da li je novi lek delotvoran, primenjuje se sekvencijalna analiza podataka iz kliničkih studija. Sekvencijalna analiza znači da se periodično, pošto studiju kompletira sledeća mala grupa pacijenata (npr. njih 6 ili 8), dobijene vrednosti ishoda u eksperimentalnoj i kon-

trolnoj grupi upoređuju pomoću odgovarajućih statističkih testova, koji zapravo ispituju verovatnoću nulte hipoteze (da ne postoji razlika između grupa). Posle prve analize koja pokaže da postoji značajna razlika, dalje sekvencijalne analize se ne sprovode, a studija se obustavlja sa zaključkom da je novi lek efikasniji od starog. Problem kod takve česte upotrebe statističkih testova na istim (samo rastućim) grupama pacijenata je u tome što se onda verovatnoća da ćemo pronaći da postoji značajna razlika jako uvećava čak i kada je nulta hipoteza u stvarnosti tačna. Na primer, ako sprovodimo testiranje 50 puta, verovatnoća da ćemo u jednom od testiranja pronađi značajnu razliku (na nivou verovatnoće nulte hipoteze manje ili jednako 0.05) između eksperimentalne i kontrolne grupe (koja zaista ne postoji) raste na čak 0.171. Da bi se ovaj fenomen izbegao, tj. da bi se izbegla statistička greška I tipa, potrebno je *da graničnu verovatnoću nulte hipoteze ispod koje ćemo računati da postoji značajna razlika* ***smanjimo***. Kolika će biti granična vrednost nulte hipoteze zavisiće od broja sekvencijalnih analiza i od toga da li je ishod u studiji kontinualna ili kategorijska veličina. Postoje tablice u statističkim udžbenicima iz kojih se može očitati tačna granična vrednost u zavisnosti od prethodno navedenih parametara; međutim, ovde ćemo ukazati na samo jedan primer – kod 50 sekvencijalnih analiza, ako je ishod kategorijska veličina, granična vrednost je p = 0.013, a ako je ishod kontinualna veličina, granična vrednost p iznosi 0.005.

Specijalne vrste dizajna kliničkih studija – ukršteni dizajn (engl. "crossover")

Ukršteni dizajn podrazumeva da svaki od ispitanika u studiji dobije uzastopno novi i stari lek. Pacijenti se dele po slučajnom principu u dve podgrupe, jedna prima lek (ili neki drugi tretman) A druga lek (ili neki drugi tretman) B

ili placebo. Kada se završi period praćenja dejstva lekova, napravi se pauza kako bi se organizam čoveka oslobodio tih lekova (faza "ispiranja"). Potom podgrupa pacijenata koja je primala lek A, prima lek B, a podgrupa koja je bila na leku B, prima sada lek A. Ovakav dizajn je najpogodniji za kliničke studije u kojima se upoređuju stari i novi lek namenjeni za brzo otklanjanje simptoma kod hroničnih oboljenja. Ukršteni dizajn omogućava da se otkloni uticaj proteklog vremena na ishode lečenja, tj. da se otkloni mogućnost preklapanja spontanog poboljšanja sa dejstvom leka. Period ispiranja mora biti dovoljno dugačak (obično 2 nedelje) da se izgubi efekat lekova i stanje pacijenta vrati na nivo iz ulazne faze. Time se sprečava "prenošenje" efekta lekova iz prve u drugu fazu studije. Periodi praćenja moraju biti dovoljno dugi da se efekti jasno primete. Ovakav ukršteni dizajn, gde imamo samo dva različita tretmana, dva redosleda primene tretmana i dva perioda tretmana je najjednostavniji vid (naziva se jednostavni ukršteni dizajn, AB/BA dizajn ili dizajn sa dva tretmana i dva perioda). Ukršteni dizajn može biti daleko složeniji ako koristimo tri ili više tretmana, koji se koriste u tri ili više perioda, pri čemu svaka od jedinica posmatranja može dobiti tretman prema tri ili više redosleda. Za raspoređivanje ispitanika po tretmanima, periodima i redosledima kod složenijeg ukrštenog dizajna koristimo Latinske kvadrate.

Međutim, bez obzira što postoji period "ispiranja" kod ukrštenog dizajna, ipak je efekat na zavisnu varijablu kod svake jedinice posmatranja funkcija nekoliko parametara: samog tretmana, perioda, redosleda vrste tretmana i slučajnih efekata (Gerry et al, 2002). Matematički se to može prikazati na sledeći način: $y_{ijk} = \mu + a_i + b_{ij} + \gamma_k + \tau_d + \lambda_c + e_{ijk}$ gde je y_{ijk} ukupni efekat na zavisnu varijablu, μ je srednja vrednost efekta, a_i je efekat redosleda primene tretmana, γ_k je efekat perioda u kome se sprovodi tretman, τ_d je direktan efekat samog tretmana, λ_c je dejstvo prenošenja efekta prethodnim

tretmanom na novi tretman, b_{ij} je slučajni efekat same jedinice posmatranja, i e_{ijk} je slučajna greška (i,k,d,c = 1,2; j = 1,2,... r_i). Vrednosti ovih parametara (tretmana, perioda, redosleda i prenošenja efekta) se mogu izračunati ako se stvarno zabeležena vrednost ukupnog efekta upoređuje sa očekivanom vrednošću ukupnog efekta kada ovi parametri nemaju uticaja. Kod najjednostavnijeg ukrštenog dizajna uticaj prenošenja efekta se ne može izračunati ako se ne pretpostavi da neki od preostalih parametara nema uticaja, što je njegova mana u odnosu na kompleksniji ukršteni dizajn. Takođe se postojanje značajnog uticaja ovih parametara (tretmana, perioda, redosleda i prenošenja efekata) može ispitati Studentovim T-testom, za svaki posebno, pod uslovom da je u pitanju jednostavan ukršteni dizajn sa samo 2 grupe i dva perioda lečenja.

7 KVAZI-EKSPERIMENTALNE STUDIJE

Kvazi-eksperimentalne studije se razlikuju od eksperimentalnih po tome što nema randomizacije, već su članovi eksperimentalne i kontrolne grupe već grupisani po nekom osnovu koji nije slučajan (Guest & Namey, 2015). Ovakav dizajn eksperimentalnih studija je opravdan samo u situacijama gde randomizacija iz nekog razloga nije moguća (npr. ako upoređujemo dve metode lečenja akutne anafilaktičke reakcije, jer tada nema vremena za sprovođenje randomizacije). Postoje dve vrste kvazi eksperimentalnog dizajna: (1) dizajn sa nejednakim grupama i (2) dizajn sa serijama ispitanika u vremenu (engl. „*time series*“). Kod ***dizajna sa nejednakim grupama*** koje nisu izabrane po slučajnom principu pacijenti i iz eksperimentalne i iz kontrolne grupe se podvrgavaju merenju vrednosti ishoda i pre i posle intervencije (nezavisne varijable). Da bi se u što većoj meri izbeglo dejstvo nekontrolisanih varijabli na ishod, jedinice posmatranja (npr. pacijenti) se mogu mečovati, tj. ujednačiti po određenim karakteristikama za koje verujemo da mogu uticati na ishod. Ukoliko mečovanje nije moguće, prilikom statističke obrade rezultata koriste se metode multivarijacione analize, kao što su multipla linearna regresija ili logistička regresija, koje mogu da izdvoje uticaj zbunjujućih varijabli na ishod od uticaja nezavisne varijable.

Dizajn sa serijama ispitanika u vremenu podrazumeva postojanje samo jedne grupe ispitanika, kod koje se merenje ishoda vrši pre i posle određene intervencije. Merenje posle intervencije odražava efekat nezavisne varijable tj. intervencije, a merenje pre intervencije je kontrola (naziva se još i

„istorijska kontrola“). Ovakav dizajn se koristi u situacijama kada je intervenciju teško definisati, ograničiti ili kontrolisati (npr. efekat zemljotresa na depresivnost kod adolescenata). Glavni problem kod ovakvih studija je u tome što se neki ishodi mogu spontano i prirodno menjati tokom vremena, nezavisno od dejstva intervencije.

8 META-ANALIZA

Meta-analiza je statistička analiza koja kombinuje rezultate pojedinačnih kliničkih studija što se bave istim problemom. Prvi uslov koji treba da ispuni kvalitetna meta-analiza je da obuhvati sve do tada publikovane kliničke studije u literaturi. Pored toga, izradi meta-analize treba da prethodi jasan i detaljan protokol, u kome će biti navedeni cilj, kriterijumi za uključivanje i isključivanje studija, strategija pretraživanja baza podataka sa publikovanim studijama (npr. MEDLINE, SCOPUS, SCINDEKS itd.), kriterijumi za procenu kvaliteta pronađenih publikovanih kliničkih studija i statističke metode koje će se upotrebiti za kombinovanje rezultata pojedinačnih studija.

Kada se pronađu kliničke studije koje se bave problemom čije rešavanje je cilj meta analize, i pošto prođu test kvaliteta, treba ***sintetisati (kombinovati i sumarno prikazati)*** njihove rezultate. Postoji više metoda sinteze rezultata pojedinačnih kliničkih studija. Najjednostavnija metoda je **"sabiranje glasova"**. Kod ove metode se jednostavno saberu studije koje govore u prilog postojanja efekta koji se ispituje (npr. uticaja novog leka na preživljavanje), i njihov broj se prikaže procentualno u odnosu na ukupan broj kliničkih studija uključenih u meta-analizu. „Sabiranje glasova" nam daje samo orijentacionu sliku o rezultatima kliničkih studija, i koristi se samo u situacijama kada nisu dostupni detaljniji podaci o studijama uključenim u meta-analizu.

Metod sinteze rezultata kliničkih studija sličan prethodnom po jednostavnosti je **„test znaka"**, koji se sprovodi kadastudije ne daju numeričke podatke, već samo smer efekta (npr. da li je neki lek efikasniji od placeba ili ne), ili

kada su studije jako različite po ishodima koje prate, tako da nije moguće numerički uporediti rezultate. Kod metoda „test znaka“ svaka studija se obeleži sa -1 ili +1, zavisno od toga da li je lek više ili manje efikasan od komparatora (npr. placeba). Kada se znakovi svih studija saberu, rezultat nam ukazuje u kom smeru je postavljen sumarni efekat i koliki je njegov intenzitet (na osnovu apsolutne vrednosti zbira). Pored toga, treba testirati da li sumarni rezultatpripada binomnoj distribuciji (u programu Ekscel se to može učiniti pomoću formule:=2*BINOMDIST(n,N,0.05,TRUE), gde je N – ukupan broj studija koje su ušle u meta-analizu, a n – broj studija sa pozitivnim efektom (znakom).

Sledeći metod sinteze rezultata pojedinačnih kliničkih studija je **kombinovanje p-vrednosti**, tj. verovatnoća nulte hipoteze pojedinih studija. I ovaj metod se koristi za sumaciju studija koje testiraju različite ishode istog kliničkog problema, ali se može koristiti i u situacijama kada u studijama nisu bilip-rikazani podaci o veličini uzorka. Izračunavanje sumarne p-vrednosti uzima u obzir smer efekta i pojedinačnu p-vrednost. Postupak izračunavanja se sastoji od sledećeg: (1) izračunati negativne prirodne logaritme od p-vrednosti svih pojedinačnih studija; (2) sabrati dobijene negativne prirodne logaritme; (3) iz tablice za Hi-kvadrat distribuciju dobijamo sumarnu p-vrednost za onoliki broj stepeni slobode koliko je bilo pojedinačnih studija, koristeći zbir logaritama. Ako je sumarna p-vrednost dovoljno mala (manja od 0.05 ili 0.01) možemo zaključiti da efekat zaista postoji (npr. da je novi lek efikasniji od komparatora).

Ako je u pojedinačnim kliničkim studijama navedena tačna vrednost efekta i broj pacijenata, onda možemo izračunati **sumarnu srednju vrednost efekta za celu meta-analizu uz ponderisanje**. Ponderisanje (tj. dodela faktora značajnosti [težine] svakoj pojedinačnoj vrednosti prilikom izračunavanja sumarne vrednosti) se vrši sa recipročnom vrednosti varijanse, jer što je vari-

jabilnost efekta u pojedinačnoj studiji veća, njegov doprinos sumarnoj vrednosti za sve studije treba da bude utoliko manji. Ako varijansu označimo grčkim slovom „σ“, a njenu recipročnu vrednost (1/σ) sa grčkim slovom omega („ω“), onda se srednja vrednost efekta za celu meta-analizu izračunava po formuli: $E = \frac{\sum \omega_i \cdot E_i}{\sum \omega_i}$, gde je E_i efekat i-te studije, a ω_i recipročna vrednost varijanse i-te studije.

Posle prikaza inicijalne sumarne vrednosti efekta treba ispitati u kojoj meri su studije ***heterogene***, tj. u kojoj meri njihovi rezultati odstupaju jedni od drugih. Ukoliko je heterogenost prevelika, ne može se mnogo verovati sumarnom efeku koji smo prethodno izračunali jednostavnim ponderisanjem. Uzroci heterogenosti su razlike između pojedinačnih kliničkih studija u primenjenim tretmanima, u karakteristikama pacijenata i u samom dizajnu. Ako se utvrdi da postoji značajna heterogenost, srednja vrednost efekta za celu meta-analizu se mora korigovati korišćenjem modela fiksnih efekata ili modela slučajnih efekata. Model fiksnih efekata podrazumeva da postoji samo jedna prava veličina efekta koja je zajednička za sve uključene studije, dok model slučajnih efekata dozvoljava da pravi efekat može varirati od studije do studije.

Samu heterogenost ispitujemo pomoću dva indeksa: (1) **Q-vrednost**, čiji rezultati se distribuiraju po Hi-kvadrat distribuciji (heterogenost postoji ako je verovatnoća pripadnosti distribuciji manja od 10%, za broj stepeni slobode koji je za 1 manji od broja uključenih studija); (2) **I^2 vrednost**, koja govori koji procenat varijabilnosti između rezultata studija se može pripisati heterogenosti (kreće se od 0 do 100%,heterogenost je utoliko veća ukoliko je ovaj procenat veći). Q-vrednost se izračunava po formuli: $Q = \sum \omega_i \cdot (E_i - E)^2$, gde je E_i efekat i-te studije, E srednja vrednost efekta dobijena postupkom ponderisanja, a ω_i recipročna vrednost varijanse i-te studije. I^2 vrednost se

izračunava iz Q indeksa, po formuli: $I^2 = \left(\frac{[Q-n-1]}{Q} \right) \cdot 100$, gde je n – broj uključenih kliničkih studija.

Ako ne postoji značajna heterogenost, onda se primenjuje model fiksnih efekata, i srednja vrednost efekta se može izračunati jednostavnim postupkom ponderisanja (kako je to prethodno pokazano u tekstu), pri čemu su granice poverenja tako izračunate srednje vrednosti efekta za verovatnoću od 96%: $\pm e^{\frac{1.96}{\sqrt{\sum \omega_i}}}$, gde je ω_i recipročna vrednost varijanse i-te studije.

Ako pak postoji značajna heterogenost, u izračunavanju srednje vrednosti efekta se primenjuje model slučajnih efekata. Suština ovog modela je u tome da se varijansi svake studije dodaje još procenjena vrednost varijanse rezultata između studija. Na osnovu tako uvećanih ukupnih varijansi pojedinačnih studija vrši se ponderisanje i izračunavanje srednje vrednosti efekta cele meta- analize. Procenjena vrednost varijanse rezultata između studija se izračunava na osnovu formule $T^2 = \frac{(Q-n-1)}{S}$, gde je vrednost S: $S = \sum \varpi_i - \frac{\sum \varpi_1{}^2}{\sum \varpi_1}$, a ω_i recipročna vrednost varijanse i-te studije. Sada je ukupna varijansa i-te studije $\sigma_i + T^2$, a recipročna vrednost ukupne varijanse i-te studije je: $\varpi_i^{sl} = \frac{1}{(\sigma_i + T^2)}$. Koristeći recipročnu vrednost ukupne varijanse pojedinačnih studija kao ponder, izračunava se srednja vrednost efekta za celu meta-analizu po formuli: $E = \frac{\sum \varpi_i^{sl} \cdot E_i}{\sum \varpi_i^{sl}}$, gde je E_i efekat i-te studije. Granice poverenja tako izračunate srednje vrednosti efekta za verovatnoću od 96% su: $\pm \frac{1.96}{\sqrt{\sum \varpi_i^{sl}}}$.

Rezultati meta analize se takođe prikazuju grafički, pomoću tzv. „šuma grafika“ (engl. „*forest plot*“). Na x-osi takvog grafika se nalazi odnos šansi (odds ratio) ili relativni rizik jedne terapije naprema drugoj, u zavisnosti kako su rezultati pojedinačnih studija bili prikazani. Na y-osi se nalaze pojedinačne studije, navedene sa prezimenom prvog autora i godinom publikacije, kao i meta-analiza kao celina. Za svaku studiju pojedinačno, i za meta-analizu kao celinu u grafik se unose odnos šansi (ili relativni rizik) zajedno sa 96%-tnim granicama poverenja u vidu horizontalnih duži sa obe strane efekta.

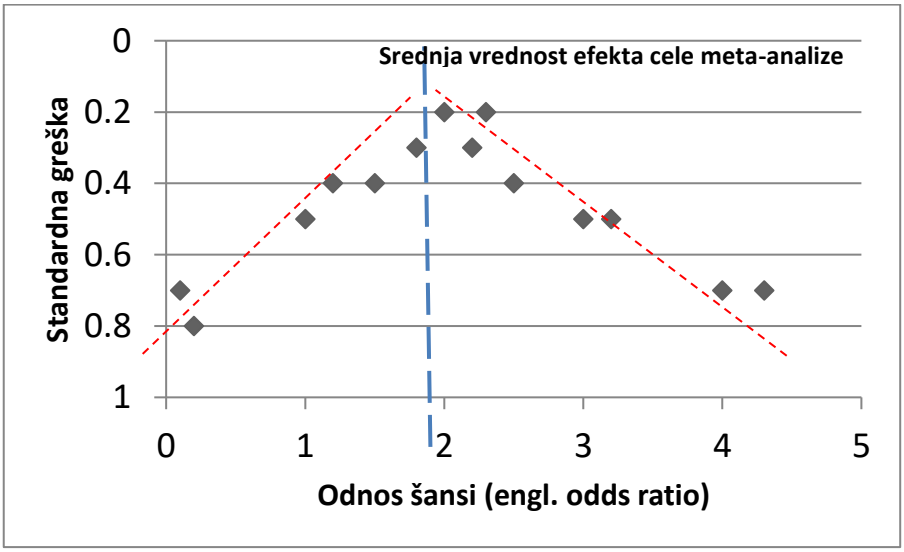
Eliminacija sistematske greške iz meta analize

Nažalost, nije dovoljno tokom izrade meta-analize samo izračunati srednju vrednost efekta i njene granice poverenja za uključene studije da bi se došlo do realne procene stvarnog efekta neke terapije. Problem leži u činjenici da su publikovane kliničke studije samo jedan deo svih kliničkih studija sprovedenih radi ispitivanja efekta određene terapije. Zato se u meta-analizu uvlači ***sistematska greška*** (engl. „*bias*“) zbog neuzimanja u obzir kliničkih studija koje nisu publikovane u časopisima dostupnim preko velikih baza podataka na internetu. Neki od uzroka nepublikovanja mnogih kliničkih studija su: nedostatak statistički značajnog efekta (urednici većine časopisa odbijaju studije koje nisu pokazale statistički značajnu razliku između tretmana koji se porede), trenutna moda i popularnost u istraživanjima (urednici časopisa odbijaju studije koje trenutno nisu interesantne većini čitalaca), sponzorstvo farmaceutskih kompanija koje žele samo određenu vrstu rezultata, nedovoljno kvalitetan engleski jezik kojim su pisani izveštaji o studijama (zbog čega urednici časopisa odbijaju rukopis ili traže lektorsku intervenciju koja je vrlo skupa), i činjenica da zaneke teme već postoji opšte “mišljenje” u naučnim krugovima, pa se forsiraju samo rukopisi koji to

potvrđuju. Zbog mogućnosti da sistematska greška postoji, prilikom izrade meta-analize potrebno je načiniti pokušaj da se on otkrije i koriguje, kako bi se dobila pouzdanija procena srednjeg efekta.

Otkrivanje sistematske greške se vrši pomoću konstrukcije tzv. „**levak grafika**“ (engl. „*funnel plot*“) i njegove analize. Na x-osi ovog grafika je srednja vrednost efekta svake studije (odnos šansi ili relativni rizik), a na y-osi je varijabilnost rezultata studije (standardna greška) ili veličina uzorka. Ako nema sistematske greške, tačke koje predstavljaju svaku pojedinačnu studiju u tom koordinatnom sistemu formiraju izgled obrnutog levka ili šatora, čija je vertikalna osa postavljena na srednjoj vrednosti efekta cele meta-analize na x-osi. One studije koje imaju više ispitanika (samim tim i manju standardnu grešku) će biti postavljene blizu vrha obrnutog levka i uz njegovu središnu osu, dok će manje studije više odstupati od srednje vrednosti efekta, pa će biti pri osnovi obrnutog levka, daleko od srednje ose.

Slika 8. Levak grafik



Kako utvrđujemo da postoji sistematska greška? Već i golim okom možemo primetiti da postoje “rupe” u “levak” grafiku, tj. asimetričan raspored tačaka koje reprezentuju pojedinačne studije. Procenu srednje vrednosti efekta za celu meta-analizu možemo na osnovu levak grafika napraviti koristeći jednu od sledeće dve metode: metodu “obreži i dopuni” (engl. “trim and fill”) ili metodu sa konstrukcijomEgerova linearne regresije.

Kod **metode „obreži i dopuni“** nacrta se “levak” grafik, a zatimeliminišu male studije sve dok se ne postigne simetrija. Sledeći korak je procena i postavljanje prave ose “levka”. U odnosu na osu „levka“dodaju se virtuelne studije kao “odrazi u ogledalu” postojećih studija, u onom broju koliko je studija bilo eliminisano u početku. Na kraju se napravi nova, preciznija procena ose„levka“, tj. srednje vrednosti efekta cele meta-analize.

Kod **metode Egerove regresije** obe ose „levak“ grafika se prvo logaritmuju prirodnim logaritmom, a potom se izračuna i ucrta linearna regresija svih studija koje se nalaze na grafiku.Mesto gde linija regresije preseče horizontalnu liniju koja odgovara vrednosti varijabilnosti (logaritma standardne greške) nula je nova procena srednje vrednosti efekta cele meta analize, korigovana za sistematsku grešku.

Ponekada je moguće uraditi meta-analizu sa podacima pojedinačnih pacijenata iz svih prethodno publikovanih studija. Takva meta-analiza se radi veoma retko, zbog slabe dostupnosti originalnih podataka svih studija.

9 KOHORTNE STUDIJE

Kohortne studije su po svom karakteru opservacione, tj. ne podrazumevaju nikakvu intervenciju na jedinicama posmatranja od strane istraživača (istraživač samo posmatra i beleži podatke u vezi sa jedinicama posmatranja, ne utičući na njih ni na koji način). Naziv su dobile po latinskom imenu za vojnu jedinicu KOHORTA, koja je imala 480 - 600 vojnika, i činila jednu desetinu veće vojne jedinice Rimske vojske, poznate pod nazivom legija (5300 - 6000 vojnika). Kohortne studije prate jednu ili više grupa ispitanika koji imaju neke zajedničke karakteristike, sa ciljem da se utvrdi koliko često se određeni ishod (tj. vrednost zavisne varijable) javlja posle perioda praćenja. Ključni element koji kohortne studije odvaja od ostalih vidova opservacionih studija je PRAĆENJE ispitanika tokom vremena.

Ako postoji samo jedna kohorta u studiji, takva kohortna studija se smatra deskriptivnom, jer će samo opisati učestalost određenog ishoda u grupi ispitanika sa nekim zajedničkim karakteristikama, bez mogućnosti da bilo šta kaže o uticaju nezavisnih ili zbunjujućih varijabli na ishod. Ako ima dve ili više kohorti, one se formiraju ***na osnovu prisustva ili odsustva određene nezavisne varijable***, i omogućavaju da se utvrdi ili odbaci postojanje veze između nezavisne varijable i ishoda; zato ovakve kohortne studije nazivamo analitičkim.

Prema hronološkom redosledu izloženosti ispitanika nezavisnoj varijabli i izvođenja studije, kohortne studije se mogu podeliti na prospektivne, retrospektivne i bidirekcione. ***Prospektivne kohortne studije***prate ispi-

tanike koji će tek biti (ili neće, u kontrolnoj kohorti) izloženi dejstvu nezavisne varijable. Kod ovog tipa kohortnih studija možemo direktno pratiti pojavu ishoda kod ispitanika, što dosta povećava pouzdanost rezultata. ***Retrospektivne kohortne studije*** počinju tek pošto su ispitanici već bili izloženi (ili nisu bili, u kontrolnoj kohorti)dejstvu nezavisne varijable, a i period praćenja ispitanika je već završen. Pojavu ishoda kod ovog tipa kohortne studije utvrđujemo uvidom u medicinsku dokumentaciju ispitanika ili intervjuisanjem ispitanika (ako to dozvoljava priroda zavisne varijable), pa pouzdanost rezultata studije dosta zavisi od potpunosti i verodostojnosti dokumentacije ili sećanja ispitanika. ***Bidirekcione kohortne studije*** takođe počinju tek pošto su ispitanici već bili izloženi (ili nisu bili, u kontrolnoj kohorti) dejstvu nezavisne varijable, ali za razliku od retrospektivnih studija, ovde se praćenje pacijenata nastavlja i posle početka studije.

Kohortne studije omogućavaju ***direktno izračunavanje incidencije ishoda*** u svakoj kohorti posebno – u grupi ispitanika izloženih nezavisnoj varijabli i u grupi ispitanika koja nije izložena nezavisnoj varijabli. Vezu između nezavisne varijable i ishoda (tj. vrednosti zavisne varijable) kod kohortnih studija utvrđujemo kroz upoređivanje RIZIKA za nastanak ishoda u prisustvu i u odsustvu nezavisne varijable. Ukoliko su svi ispitanici u obe kohorte (ili više kohorti, ako ih ima) bili praćeni podjednako dugo, onda rizik možemo uporediti kroz veličinu koju nazivamo **ODNOS RIZIKA** (engl. risk ratio, RR). Odnos rizika (još se naziva i relativni rizik) je ***količnik kumulativne incidencije ishoda u kohorti izloženoj nezavisnoj varijabli i kumulativne incidencije ishoda u kontrolnoj kohorti***, gde ispitanici nisu izloženi nezavisnoj varijabli. Na primer, ako u našoj studiji pratimo uticaj konzumiranja kafe (nezavisna varijabla) na pojavu tumora mozga (zavisna varijabla), uzmimo da smo po završetku kohortne studije (u kojoj su ispitanici kohorte koja je konzumirala kafu i ispitanici kohorte koja nije praćeni podjednako dugo, 10

godina) zabeležili da je rizik (tj. kumulativna incidencija za svih 10 godina) nastanka tumora mozga u kohorti koja je pila kafu 4% (od n1 = 100 ispitanika koliko je brojala kohorta, tumor je dobilo njih četvoro [x1=4]), a u kohorti koja nije pila kafu 2% (od n2 = 100 ispitanika tumor je dobilo dvoje [x2=4]). Odnos rizika je $=\frac{4\%}{2\%}$, što praktično znači da neko ko pije kafu ima 2 puta veći rizik da dobije tumor mozga. Da li je ovaj odnos rizika statistički značajan, zavisi od njegovog intervala poverenja (IP, engl. confidence interval), koji se za verovatnoću od 95% izračunava po formuli: $IR = RR \pm e^{1.96\cdot\sqrt{\frac{(n1-x1)}{x1}+\frac{(n2-x2)}{x2}}}$. Ako interval poverenja obuhvata jedinicu, odnos rizika nije značajan, i obrnuto.

Ukoliko svi ispitanici u kohortnoj studiji nisu praćeni podjednako dugo, onda ne možemo između kohorte koja je izložena nezavisnoj varijabli i kontrolne kohorte upoređivati kumulativne incidencije ishoda, ***već moramo učestalost ishoda u obe kohorte izraziti po proizvodu broja ispitanika i vremena u kome su praćeni***. Ako u prethodnom primeru uzmemo da je kohorta ispitanika koji su konzumirali kafu praćena 9 godina, a kohorta ispitanika koji nisu pili kafu 10 godina, onda bi učestalost tumora mozga u kohorti kavopija bila: $\frac{4}{100\ pac\cdot 9\ god.}=\frac{4}{900\ \text{pacijent - godina}}=0.0044$. U kohorti onih koji nisu pili kafu učestalost tumora mozga bi bila: $\frac{2}{100\ pac\cdot 10\ god.}=\frac{2}{1000\ \text{pacijent - godina}}=0.002$. ***Odnos učestalosti*** tumora mozga (engl. rate ratio) između kohorte kavopija i kohorte onih koji nisu pili kafu iznosi: $\frac{F1}{F2}=\frac{0.0044}{0.002}=2.2$. Dakle, zaključak ove kohortne studije bi bio da osobe koje konzumiraju kafu imaju 2.2 puta ***češće*** tumore mozga nego osobe koje kafu ne piju. I ovde će statistička značajnost ovog zaključka zavisiti od intervala poverenja (IP), koji se za verovatnoću od 95% izračunava ovako:

$IP = \frac{F1}{F2} \pm e^{1.96 \cdot \sqrt{\left(\frac{1}{x1} + \frac{1}{x2}\right)}}$. Ako interval poverenja obuhvata jedinicu, odnos rizika nije značajan, i obrnuto.

Prednosti kohortnih studija u odnosu na ostale opservacione kvantitativne studije su u tome što obezbeđuju direktno izračunavanje incidencije ishoda, što je moguće pratiti više ishoda kao posledicu izlaganja jednoj nezavisnoj varijabli, što postoji vremenski sled između izlaganja nezavisnoj varijabli i pojave ishoda (čime se približavamo utvrđivanju uzročno-posledične veze) i što je manji uticaj sklonosti istraživača kao određenom ishodu na rezultate, jer istraživači ne znaju kakav je ishod kod ispitanika u toku većeg dela studije. Mane kohortnih studija su u njihovoj visokoj ceni i u dugotrajnosti zbog čekanja da se kod ispitanika u kohortama pojavi ishod koji se posmatra. Kod akademskih istraživanja, koja najčešće ne raspolažu velikim sredstvima, kohortni dizajn treba birati samo kada je period između izlaganja nezavisnoj varijabli i pojave ishoda relativno kratak, tj. meri se danima, nedeljama i najviše mesecima.

10 STUDIJE SLUČAJ-KONTROLA I SLUČAJ-KOHORTA (engl. *case-control and case-cohort*)

Studije slučaj – kontrola su po svom karakteru takođe opservacione, i proučavaju kakve razlike postoje između ispitanika koji imaju određeni ishod (slučajevi) i onih koji ga nemaju (kontrole) u pogledu izloženosti različitim nezavisnim varijablama. Dakle, kod studija slučaj – kontrola studijske grupe se formiraju prema prisustvu ili odsustvu ISHODA, a među njima se traže razlike u pogledu izloženosti nezavisnim varijablama. Kada se kod ispitanika utvrdi da li ishod postoji ili ne, pristupa se prikupljanju podataka o nezavisnim varijablama iz medicinske dokumentacije, iz administrativnih podataka ili na osnovu intervjuisanja ispitanika.

Kada planiramo studiju slučaj – kontrola, prvo treba da definišemo precizno populaciju iz koje ćemo uzimati slučajeve i kontrole (pomoću kriterijuma za uključivanje i isključivanje iz studije). Zatim treba identifikovati slučajeve, u čemu nam mnogo mogu pomoći registri oboljenja, ukoliko su nam dostupni. Ako registri ne postoje, onda se obično u u studiju uključe svi slučajevi koji se pojave u nekom određenom vremenskom periodu na mestima gde se istraživanje sprovodi. Uvek je bolje da mesta istraživanja bude više (dakle da studija bude multicentrična), kako bi se izbegao uticaj faktora specifičnih za mesto ispitivanja na rezultate. Kontrole zatim treba uzorkovati iz istraživane populacije po slučajnom principu, ne obraćajući pažnju kojim nezavisnim varijablama su izložene, kako bi se izbegao uticaj sklonosti istraživača na

rezultate. Za svaki od slučajeva se mogu pronaći 1, 2, 3 ili 4 kontrole, koje treba po nekim osnovnim karakteristikama izjednačiti sa slučajevima (ovaj postupak se engleski naziva "***matching***", i njegova svrha je da se isključi uticaj nekih varijabli na ishod tako što će i slučajevi i kontrole imati te iste varijable. Mečovanje se najčešće vrši samo na osnovu pola i starosti, ali se može uključiti i veći broj varijabli.

Kada su u pitanju slučajevi, moguće je izabrati sve ispitanike kod kojih se ishod pojavio po prvi put (odnosno po prvi put je dijagnostikovan), koje onda nazivamo ***incidentni*** slučajevi. Ako pak izaberemo sve slučajeve, i one kod kojih je ishod pojavio po prvi put, i one kod kojih se ishod pojavljivao više puta, takvi slučajevi se nazivaju ***prevalentnim***. Incidentne slučajeve treba koristiti uvek kada se može, jer je kod njih lakše izdvojiti da li je izloženost nezavisnoj varijabli prethodila pojavi ishoda, tj. da li može postojati mogućnost da se radi i o uzročno-posledičnoj vezi.

Studije slučaj – kontrola se koriste pre svega za proučavanje ređih pojava tj. ishoda, i njihov cilj je pre svega da postave hipotezu o postojanju veze između neke nezavisne varijable i ishoda. Ovakvim tipom opservacionog dizajna se ne mogu otkriti ni incidencija ni prevalencija, jer populacija koja se istražuje nije prethodno precizno popisana i prebrojana, tj. nedostaje nam imenilac u formulama kojima se izračunavaju incidencija i prevalencija. Izloženost slučajeva nezavisnoj varijabli izražavamo kao ŠANSU (engl. "odds"). Na primer, ako od 40 slučajeva (x) sa tumorom mozga (ishod) njih 10 (a) pije kafu, ŠANSA da neko ko ima tumor mozga pije kafu je a:(x-a) = 10:30. S druge strane, ako od 80 kontrola (y) koji nemaju tumor mozga kafu pije njih 10 (b), ŠANSA da neko ko nema tumor mozga pije kafu je b: (y-b) = 10:70. Kakav je odnos zastupljenosti nezavisne varijable između slučajeva i kontrola izražavamo ODNOSOM ŠANSI (OŠ, engl. "odds ratio"), koji u navedenom primeru

iznosi $OŠ = \frac{\frac{a}{x-a}}{\frac{b}{y-b}} = \frac{\frac{10}{30}}{\frac{10}{70}} = \frac{0.333}{0.143} = 2.33$. Ovakav odnos šansi u našem primeru znači da su osobe sa tumorom mozga 2.33 puta češće pile kafu u prošlosti od osoba koje nemaju tumor mozga. I ovde je neophodno da interval poverenja ne obuhvata vrednost 1, da bi se dobijeni odnos šansi mogao proglasiti statistički značajnim. Interval poverenja (IP) oko vrednosti odnosa šansi za verovatnoću od 95% se izračunava po sledećoj formuli: $IP = OŠ \pm e^{1.96\sqrt{\frac{1}{a}+\frac{1}{x-a}+\frac{1}{b}+\frac{1}{y-b}}}$. Odnos šansi koji se izračunava kao u navedenom primeru se naziva još i SIROVI ili neprilagođeni odnos šansi, jer ne uzima u obzir uticaj koji više nezavisnih varijabli mogu imati jedna na druge, pa sledstveno i na ishod. Zato se pored sirovog, za svaku nezavisnu varijablu u studiji izračunava i tzv. prilagođeni odnos šansi (zajedno sa intervalom poverenja) pomoću logističke regresione analize. Ova analiza počiva na izradi linearnog regresionog modela kod koga je vrednost zavisne varijable (koja je dihotoma, tj. ili postoji ishod ili ne) u linearnoj zavisnosti od logaritamski transformisanih vrednosti nezavisnih varijabli.

U okviru kohortne studije na istim ispitanicima se može izvesti i studija slučaj – kontrola, jer imamo kod svih pacijenata zabeleženu izloženost nezavisnim varijablama i zabeleženo da li imaju ishod ili ne. Takva studija slučaj – kontrola se naziva "***usađena studija slučaj-kontrola***" (engl. "*nested case-control*"). Kao slučajevi se uzimaju svi članovi kohorte kod kojih se pojavio određeni ishod od interesa, a kao kontrole se uzimaju članovi kohorte koji nemaju taj ishod od interesa, ali moraju biti mečovani sa slučajevima po starosti, polu, i obavezno ***po vremenu koje su proveli u kohorti***, računato od momenta kada je kohorta počela da se prati. Kod usađenih studija slučaj-kontrola broj kontrola treba da bude 4 ili 5 puta veći od broja slučajeva. U

ostalim aspektima usađene studije slučaj-kontrola se ne razlikuju značajno od običnih studija slučaj kontrola. Prednosti usađenih studija slučaj-kontrola nad običnim studijama slučaj kontrola su: (1) podaci o izloženosti ispitanika nezavisnim i zbunjujućim varijablama često već postoje zbog ranijeg praćenja kohorte, i obično su potpuniji; (2) kontrole su iz iste populacije kao i slučajevi, što smanjuje mogućnost sistematske greške.

Posebna vrsta studije koja je takođe usađena u kohortnu studiju je ***studija slučaj-kohorta (engl. „case-cohort study")***. I ovde su „slučajevi" svi članovi kohorte kod kojih se javlja ishod od interesa za istraživanje; međutim, kontrole nisu mečovane sa slučajevima, već se kontrolna grupa dobija kao slučajan uzorak (stratifikovan ili nestratifikovan) iz cele kohorte. Za kontrolnu grupu se često koristi naziv „podkohorta" (engl. „subcohort"). Ovakav dizajn ima izvesne prednosti, jer je moguće iz podkohorte izračunati indicenciju i standardizovanu stopu mortaliteta, i koristiti podkohortu kao kontrolnu grupu za veći broj ishoda. Podkohorta može poslužiti i kao zamena za celu kohortu ako je potrebno kod interventnih kohortnih studija izvesti veći broj skupih i složenih dijagnostičkih metoda. Najzad, iz podkohorte se mogu dobiti mečovane kontrole za slučajeve, ukoliko se želi da se dodatno uradi usađena studija slučaj-kontrola. Loša strana studija slučaj-kohorta je komplikovan način izračunavanja varijanse za različite statističke veličine.

Kada se izvode studije slučaj-kohorta važno je precizno definisati originalnu kohortu iz koje je izdvojena podkohorta, zatim jasno definisati slučajeve i period praćenja.

11 SISTEMATSKA GREŠKA KOD KOHORTNIH I STUDIJA SLUČAJ – KONTROLA

Kod kohortnih studija i studija slučaj-kontrola postoje najmanje tri razloga zbog kojih može nastati sistematska greška (engl. "*bias*"), koja čini rezultate nepouzdanim. Prvi razlog je ***neadekvatna selekcija*** ispitanika za studijske grupe, koja se može izbeći ako se pacijenti biraju po slučajnom principu iz populacije koja se proučava. Drugi razlog je ***nepouzdanost informacija***, kada se procena izloženosti nezavisnim varijablama ili procena ishoda vrše nepouzdanim metodama (npr. na osnovu sećanja ispitanika, ili na osnovu izjava ispitanika kada postoji mogućnost da oni ne daju iskrene odgovore o osetljivim ili ličnim pitanjima). Nepouzdanost informacija se može prevazići sakupljanjem podataka što ranije posle nekog događaja, upotrebom standardizovanih upitnika, zaslepljivanjem istraživača u pogledu izloženosti ispitanika nezavisnoj varijabli ili korišćenjem bioloških markera izloženosti nekoj varijabli. Treći razlog je postojanje ***zbunjujućih varijabli***. Zbunjujuće varijable utiču na zavisnu varijablu, ali su takođe i povezane sa nezavisnom varijablom. Zato one zamagljuju stvarnu vezu između nezavisne i zavisne varijable. Na primer, ako ispitujemo dejstvo nezavisne varijable gojaznost na pojavu infarkta miokarda (zavisna varijabla), zbunjujuća varijabla može biti starost. Naime, starije osobe češće imaju infarkt miokarda, pa primećena veza između gojaznosti i infarkta miokarda može biti zapravo dejstvo starosti a ne same gojaznosti. U takvim situacijama zbunjujuću varijablu treba ili isključiti (npr. tako što će kod studije slučaj – kontrola slučajevi i kontrole biti ujednačeni po starosti, ili kod kohortne studije tako što će kohorte biti ujednačene po starosti) ili je uzeti u obzir prilikom statističke obrade rezultata, kada se posebnim tehnikama može proceniti posebno uticaj svake varijable.

Jedna od metoda smanjenja sistematske greške kod opservacionih studija je ujednačavanje grupe ispitanika koja je dobila određeni tretman (nezavisnu varijablu), i one koja nije, prema distribuciji zbunjujućih varijabli. Drugim rečima, grupa ispitanika koji imaju određeni tretman i grupa ispitanika koja nemaju taj tretman treba da budu ujednačene **po verovatnoći da dobiju taj tretman** izračunatoj na osnovu podataka o zbunjujućim varijablama **PRE** dodele tretmana. Verovatnoća da se dobije određeni tretman se izražava preko veličine koja se naziva **SKOR SKLONOSTI** (engl. „**propensity score**"). Skor sklonosti se može izračunati na više načina, ali je najjednostavniji preko binarne logističke regresije kod koje je ishod dodela tretmana, a prediktori su zbunjujuće varijable. Kada se za svakog ispitanika izračuna njegov skor sklonosti, onda se za one koji su dobili određeni tretman traže po jedan ili više ispitanika koji nisu dobili taj tretman, a imaju sličan skor sklonosti. Sličan skor sklonosti obično znači da je razlika manja od neke vrednosti (npr. 0.2 standardne devijacije logit-a [prirodni logaritam skora sklonosti]). Logit se inače još naziva log-odds, jer je jednak prirodnom logaritmu šansi da se nešto ostvari: $Logit = \ln \frac{p}{1-p}$, gde je p verovatnoća tog događaja.

Posle izvršenog svrstavanja ispšitanika u grupu koja je dobila tretman, i koja nije dobila tretman (a mečovani su sa ispitanicima koji su dobili tretman po skoru sklonosti), vrši se upoređenje distribucije skora sklonosti u obe grupe, kako bi se proverilo da li je mečovanje dobro izvedeno. Zadovoljavajući rezultat je ukoliko se standardizovane srednje vrednosti ovih distribucija (tj. srednje vrednosti skora sklonosti podeljene sa standardnom devijacijom u svakoj od distribucija) ne razlikuju za više od 0.1. Ako je mečovanje pacijenata po skoru sklonosti bilo dobro sprovedeno, onda se za dalju analizu uzimaju samo ispitanici koji su dobili tretman i sa njima po skoru sklonosti mečovani ispitanici bez tretmana. Na ovako odabranim ispitanicima se zatim ispituje efekat tretmana na ishod studije (npr. izlečenje ili preživljavanje, ili šta drugo) pomoću multivarijantne binarne logističke regresije, uzimajući u obzir naravno sve zbunjujuće varijable.

Mečovanje pacijenata po skoru sklonosti je procedura koja ima najviše efekta kod obrade podataka **velikih uzoraka** ispitanika, obično sa više hiljada pojedinaca. Razlog za to je činjenica da se mečovanjem uzorak značajno smanjuje, pa ako ima svega nekoliko stotina članova, dobija se mečovani uzorak koji je još manji, što smanjuje ukupnu statističku snagu. Kod velikih uzoraka sa više hiljada ispitanika ovaj problem ne postoji, pa mečovanje pacijenata po skoru sklonosti smanjuje mogućnost sistematske greške uz neznatan gubitak na statističkoj snazi.

12 UZROČNOST KOD OPSERVACIONIH STUDIJA

Kod tumačenja rezultata opservacionih studija treba uvek imati na umu da statistička veza koju pronađemo između nezavisne i zavisne varijable sama po sebi ne znači da postoji i uzročno-posledična veza. Zato statističku vezu oprezno nazivamo „udruženošću“ nezavisne i zavisne varijable (engl. „*association*“) ili prosto „vezom“. Da bi se moglo govoriti o uzročno-posledičnoj vezi, potrebno je više opservacionih studija, čiji rezultati ispunjavaju kriterijume koje je postavio Hil (engl. *Hill*) u svom radu iz 1965. godine. Hilovi kriterijumi za postojanje uzročno-posledične veze između nezavisne i zavisne varijable su:

1. Velika snaga statističke veze, npr. jako velike ili jako male vrednosti relativnog rizika (> 3 ili < 0.33) ili odnosa šansi (> 4 ili < 0.25)
2. Potvrda iz više opservacionih studija koje su sproveli različiti istraživači;

3. Specifičnost veze, tj. nezavisna varijabla utiče samo na jednu zavisnu varijablu;
4. Vremenski sled, tj. nezavisna varijabla prethodi zavisnoj, odnosno ishodu;
5. Postojanje zavisnosti veličine ishoda od doze nezavisne varijable;
6. Postojanje biološkog objašnjenja uzročno-posledične veze;
7. Postojanje laboratorijskih dokaza za uzročno-posledičnu vezu;
8. Postojanje eksperimentalnih dokaza za uzročno-posledičnu vezu;
9. Postojanje slične uzročno-posledične veze, tako da se može postaviti analogija.

Kao što se može primetiti, kriterijumi nisu eksplicitni, tako da se ne mogu mehanički primeniti za utvrđivanje kauzalnosti. Svaki slučaj potencijalne uzročno-posledične veze treba razmatrati posebno, i doneti definitivan zaključak tek posle šireg konsenzusa u naučnoj zajednici.

13 OPSERVACIONE STUDIJE NA SEKUNDARNIM PODACIMA

U studije na sekundarnim podacima spadaju istraživanja koja sprovodi istraživač koristeći podatke ***koje je neko drugi*** prikupio. Ti podaci mogu biti dobijeni od drugog istraživača, koji ih je prikupljao za neku svoju raniju studiju, ali se mnogo češće nalaze u velikim bazama podataka koje prikupljaju razne vladine i nevladine stručno-naučne organizacije, ili administracija različitih država. Na primer, mogli bismo planirati da sprovedemo studiju koja bi ispitala vezu između propisivanja nesteroidnih antiinflamatornih lekova i broja pacijenata koji se nalaze u terminalnoj bubrežnoj insuficijenciji. Podatke o količini propisanih nesteroidnih antiinflamatornih lekova u poslednjih 10 godina bismo mogli dobiti iz baze podataka o potrošnji lekova Agencije za lekove i medicinska sredstva Srbije, a podatke o broju pacijenata sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom u istom periodu iz Statističkih godišnjaka Instituta za javno zdravlje Srbije "dr Milan Jovanović – Batut". Upoređivanjem i statističkom obradom navedenih sekundarnih podataka bismo mogli da zaključimo da li postoji statistička veza između količine propisanih nesteroidnih antiinflamatornih lekova i broja pacijenata sa terminalnim insuficijencijom bubrega.

Istraživanja na sekundarnim podacima se sprovode u fazama:

I faza – postaviti temu, tj. istraživačko pitanje;

II faza – pronaći odgovarajuću bazu podataka. U svetu i kod nas postoji veliki broj baza podataka koje se mogu upotrebiti za istraživanje, ali ću ovde pomenuti samo neke najvažnije:

- Baza podataka o potrošnji lekova koji se izdaju o trošku obaveznog zdravstvenog osiguranja u Srbiji postoji za svaku godinu još od 2004 godine do danas; nalazi se na veb stranici Agencije za lekove i medicinska sredstva Srbije: http://www.alims.gov.rs/ciril/o-agenciji/publikacije/
- Baza podataka o mortalitetu i morbiditetu građana Srbije od najvažnijih nezaraznih i zaraznih biolesti, u vidu Zdravstveno-statističkoh godišnjaka koji postoje za svaku gorinu od 1997. do danas; nalazi se na veb stranici Instituta za javno zdravlje Srbije "dr Milan Jovanović – Batut": http://www.batut.org.rs/index.php?content=77
- Virtuelna kapija na veb stranici Svetske Zdravstvene organizacije kroz koju se može pristupiti velikom broju baza podataka o pojedinačnim zdravstvenim pitanjima: http://apps.who.int/gho/data/node.main
- Baze podataka Svetske banke o skoro svim zemljama sveta koje uključuju demografiju, zdravstvene indikatore, ekonomske indikatore i mnogo šta drugo: http://data.worldbank.org/
- Baze podataka o demografiji, mortalitetu i morbiditetu za preko 50 zemalja Evrope se nalaze na virtuelnoj kapiji Evropske kancelarije Svetske zdravstvene organizacije: http://www.euro.who.int/en/data-and-evidence
- Spisak linkova za najvažnije baze podataka u svetu koje se odnose na zdravlje ljudi se nalazi na veb stranici Instituta za merenja i procene u zdravstvu Univerziteta u Vašingtonu: http://ghdx.healthdata.org/
- Baza podataka o vitalnoj statistici, ekonomskim pokazateljima, zdravstvenim i društvenim pokazateljima koji se odnose na stanovništvo Srbije se nalazi na veb stranici Republičkog zavoda za statistiku: http://webrzs.stat.gov.rs/WebSite/

- Baze podataka bolnica i drugih zdravstvenih ustanova u Srbiji o fakturisanim uslugama za lečenje i dijagnostiku pojedinih oboljenja.

III faza – dobro se upoznati sa bazom podataka, kako bi se mogli izvući potrebni podaci za analizu. Najbolje je pribaviti originalni upitnik koji je služio za prikupljanje podataka, jer će nam tada biti jasno značenje podataka koji su prikazani u bazi. Treba saznati kako su tvorci baze postupali sa nedostajućim podacima, i da li je tokom perioda prikupljanja bilo promena u načinu merenja ili klasifikacije podataka (npr. može se desiti da su u prvom periodu računali kao stare osobe one iznad 60 godina, a u drugom one iznad 65 godina). Takođe je veoma bitno saznati kako su uzorkovali ispitanike za bazu podataka, tj. da li su koristili neku od složenih šema uzorkovanja (npr. stratifikaciju, klaster uzorkovanje ili nešto drugo). Način uzorkovanja je važan, jer se prema njemu podaci iz baze moraju ***ponderisati***, tj. podacima koji predstavljaju veći deo populacije u uzorku treba dati veću "težinu", odnosno matematički im omogućiti veći uticaj na neku sumarnu veličinu koja odražava celu populaciju. Najčešće tvorci baze podataka daju i uputstvo kako da se sprovede ponderisanje, pa se takvih uputstava treba držati.

IV faza – sprovesti analizu podataka;

V faza – napisati izveštaj o istraživanju, tj. pripremiti rukopis za štampu.

Istraživanja na sekundarnim podacima imaju svoje prednosti i mane. Prednosti su: veliki obim podataka, ušteda u vremenu i novcu i dobro planirana struktura podataka u bazama koja omogućava laku ekstrakciju i upotrebu podataka. S druge strane, najvažnije mane ovakvih istraživanja su: neki bitni podaci mogu nedostajati, ponekada nije jasno kako su podaci prikupljani, što otežava njihovu upotrebu, i treba utrošiti dosta vremena da se nauči kako da se koriste podaci iz određene baze.

14 STUDIJE PRESEKA

Studije preseka su po svojoj prirodi opservacione, i kod njih se prisustvo ili odsustvo uzroka i ishoda (tj. nezavisne i zavisne varijable) ***kod svakog ispitanika utvrđuje istovremeno***, u jednom trenutku, bez prethodnog ili daljeg praćenja ispitanika (Carlson and Morrison, 2009). Mada je izvođenje studija preseka lakše od izvođenja drugih opservacionih studija, jer se sva merenja obavljaju jednokratno, upravo takav dizajn je uzrok njihove glavne slabosti: ne može se znati da li nezavisna varijabla prethodi zavisnoj, pa se ne može ni utvrditi uzročno-posledična veza između nezavisne i zavisne varijable.

Studije preseka (engl. *cross-sectional studies*) mogu da utvrde ***prevalenciju*** vrednosti neke varijable (prevalencija: procenat populacije koji u datom trenutku ima neku vrednost varijable, npr. ima neko oboljenje), ali ne incidenciju, tako da izostavljaju ispitanike kod kojih se pojavila određena vrednost varijable (npr. neko oboljenje), ali je nestala pre nego što je studija počela (npr. pacijent se izlečio). Grupe ispitanika se kod ove vrste studija formiraju ***prema izloženosti nezavisnoj varijabli***, ili prema različitim vrednostima nezavisne varijable ako ih ima više (npr. ako je nezavisna varijabla stadijum tumora pluća, imaćemo 4 studijske grupe jer postoji toliko stadijuma ovog tumora).

Kod studija preseka veći broj ispitanika i ravnomernija distribucija u pogledu izloženosti nezavisnoj varijabli (tj. broj ispitanika u studijskim grupama je sličan) doprinose većoj ***preciznosti*** njihovih rezultata (slučajna varijabilnost rezultata studije je manja). Pored preciznosti, važna karakteristika

dobre studije preseka (a i ostalih opservacionih studija) je ***pouzdanost (*engl. *„validity")***. Pouzdanost može biti ***unutrašnja***, koja podrazumeva da ne postoji sistematska greška u rezultatima studije, tj. da razlika u zavisnoj varijabli (ishodu) između studijskih grupa nije uzrokovana nekim drugim razlozima (varijablama) osim nezavisne varijable. Unutrašnja pouzdanost s može postići eliminacijom zbunjujućih varijabli pomoću kriterijuma za uključivanje i isključivanje ispitanika, kao isključivanjem njihovog uticaja na zavisnu varijablu pomoću regresionih statističkih tehnika. ***Spoljašnja pouzdanost*** znači da se rezultati (tj. zaključci) studije mogu primeniti na druge populacije i uslove (generalizovati). Najčešći razlog za nepostojanje spoljašnje pouzdanosti je *nereprezentativnost uzorka* ispitanika, npr. uzorak pacijenata je uzet samo iz jedne zdravstvene ustanove, uzorak životinja je uzet samo sa jedne farme, uzorak stabala oraha samo sa jednog imanja i slično. Zato pri planiranju studije preseka istraživači treba da izaberu što je moguće reprezentativniji uzorak za populaciju koja je predmet istraživanja.

Utvrđivanje (merenje) vrednosti varijabli kod studija preseka se može obaviti direktnim pregledom ispitanika, uvidom u dokumentaciju (npr. zdravstvene kartone ili istorije bolesti ispitanika), anketiranjem ili intervjuisanjem ispitanika. Anketiranje je jeftinije od intervjua, ali je procenat iapitanika koji pristaju na anketu manji nego procenat pacijenata koji pristaju na intervju (Mann 2003).

Idealno izbor ispitanika za studiju preseka iz populacije koja je predmet istraživanja treba da bude slučajan; treba izbeći dobrovoljce, jer oni mogu uneti sistematsku grešku u istraživanje. Takođe, da bi studija bila validna, neophodno je da procenat izabranih ispitanika koji zaista učestvuju u studiji (engl. "respondents") bude visok. Prilikom pisanja izveštaja o studiji preseka (tj. izrade rukopisa za časopis) neophodno je izričito navesti procenat izabranih ispitanika koji su učestvovali u studiji (engl. "*response rate*").

Prednosti studija preseka su niska cena, brzo izvođenje, mogućnost istovremenog praćenja više zavisnih varijabli i mogućnost određivanja prevalencije. Mane studija preseka su nemogućnost utvrđivanja uzročno-posledične veze nezavisne i zavisne varijable, i nemogućnost njihove primene za proučavanje retkih pojava (npr. retkih bolesti).

15 SERIJE SLUČAJEVA

Serije slučajeva (engl. "*case series*") su deskriptivne opservacione studije koje u određenom vremenu prate grupu ispitanika izloženu istom faktoru (npr. grupu pacijenata sa istom dijagnozom ili grupu pacijenata podvrgnutih istoj intervenciji). Seriju slučajeva koristimo pre svega za stvaranje hipoteza koje kasnije treba proveriti analitičkim opservacionim (kohortnim, slučaj kontrola) ili eksperimentalnim studijama (npr. kontrolisana klinička studija). Pored toga, serijama slučajeva se pouzdano mogu ispitati neželjena dejstva lekova i drugih terapijskih metoda, kao i tačnost prognostičkih testova (Kooistra et al, 2009).

Prednosti studija tipa serije slučajeva su velika spoljašnja pouzdanost (rezultati se mogu generalizovati jer ispitanici nisu selekcionisani kao kod eksperimentalnih studija), niska cena, lako izvođenje (nije potrebna randomizacija) i etička prihvatljivost (pacijenti se ne izlažu placebu niti bilo kakvoj posebnoj proceduri u odnosu na uobičajeno lečenje). Glavni nedostatak serije slučajeva je nepostojanje kontrolne grupe, zbog čega nije moguće utvrditi uzročno-posledičnu vezu između nezavisne i zavisne varijable, tj. između uzroka i ishoda. Pored toga, nedostaci serije slučajeva su nepouzdanost merenja vrednosti studijskih varijabli (jer to ne rade istraživači) i mogućnost sistematske greške prilikom uključivanja ispitanika, posebno kod restrospektivnih serija.

Kada dizajniramo seriju slučajeva, prvo treba da postavimo istraživačko pitanje koje će uključiti: uzrok (intervencija, nezavisna varijabla), ishod

(zavisna varijabla) i populaciju kojoj pripadaju ispitanici. Potom treba definisati kriterijume za uključivanje i isključivanje ispitanika, koji treba da budu zasnovani na opšteprihvaćenim definicijama populacije koja je predmet istraživanja. U studiju treba uključiti SVE ispitanike na koje će se u određenom periodu naići, jer to smanjuje mogućnost sistematske greške. Period uključivanja ispitanika treba da bude što kraći, jer se time smanjuje uticaj raznih faktora zavisnih od vremena na ishode (npr. uticaj sezone u toku godine).

Nezavisnu varijablu (intervenciju), zavisne varijable (ishodi) i zbunjujuće varijable treba što detaljnije opisati, uključujući metode njihovog merenja. To će smanjiti mogućnost nastanka sistematske greške i omogućiće da drugi istraživači kasnije ponove istu studiju. Od ishoda u medicini treba obavezno birati stepen poboljšanja stanja pacijenta (koristeći pouzdane indekse ili upitnike), kvalitet života (pomoću pouzdanih upitnika) i laboratorijske pokazatelje. Kad je god to moguće, merenje ishoda ne bi trebalo da rade sami istraživači, već nezavisni stručnjaci koji su angažovani u studiji samo za tu svrhu, i kojima nije poznato kakvoj intervenciji su pacijenti bili izloženi. Ovo je veoma važno za smanjenje mogućnosti da sklonost istraživača utiče na rezultate.

Rezultati serije slučajeva se obrađuju samo deskriptivnim statističkim metodama (mere centralne tendencije, mere varijabilnosti, procentualna zastupljenost). Pri pisanju izveštaja o rezultatima serije slučajeva treba biti umeren u diskusiji, i izbeći spekulacije o uzročno posledičnoj vezi intervencije i ishoda, jer kao što je već rečeno, ova vrsta studija to ne može dokazati.

16 PRIKAZI SLUČAJEVA

Prikaz slučaja predstavlja detaljan opis pacijenta i njegovog oboljenja, kao i rezultata svih dijagnostičkih i terapijskih mera preduzetih na tom pacijentu. Iz takvog opisa može se dobiti dalekosežan uvid u prirodu oboljenja, mehanizam njegovog nastanka, efikasnost i bezbednost primenjene terapije, i često otkriti nešto što je ostalo neprimećeno u prethodno sprovedenim kliničkim studijama. Nekada se na jednom pacijentu može uvideti važan mehanizam nastanka oboljenja ili princip dejstva terapije koji se ne da primetiti na stotinama drugih pacijenata, baš zato što ekstremna forma neke pojave lakše navodi na zaključivanje. Veoma je važno da lekari i farmaceuti zabeleže i detaljno opišu svaki slučaj iz svoje prakse koji deluje instruktivno, a zatim da ga objave kako bi drugi mogli iz toga da nauče nešto novo postave osnovu za svoja buduća istraživanja (Rison 2013).

Da bi slučaj zaslužio da bude opisan i publikovan, potrebno je da u sebi sadrži neku novu informaciju: do tada nepoznatu bolest, novi uvid u patofiziologiju poznate bolesti, do tada nepoznato neželjeno dejstvo leka ili medicinskog sredstva, do tada nepoznatu interakciju između lekova ili lekova i hrane, novi prognostički faktor ili novu varijaciju toka bolesti. Drugi uslov koji treba da bude ispunjen kako bi prikaz slučaja mogao da se publikuje je pristanak pacijenta u pisanoj formi da podaci o njegovom oboljenju mogu biti izneti u javnost (ali bez otkrivanja njegovog identiteta) i zatim dalje korišćeni, pošto mu je prethodno bilo omogućeno da pročita opis svog slučaja. Kada se priprema za publikovanje, prikaz slučaja treba da ima sledeće odeljke: uvod, opis

slučaja, diskusiju i zaključak. Uvodni deo treba da pruži osnovne informacije koje slučaj koji ćemo opisati stavljaju u širi kontekst (npr. učestalost takvog slučaja, do tada poznati mehanizmi nastanka oboljenja, mehanizam dejstva leka koji je izazvao neželjeno dejstvo, do tada opisane interakcije leka čiju novu interakciju ćemo prikazati kao slučaj, itd.). Uvod treba da bude sažet, jasan i čitaocu koji ima samo opšte medicinsko obrazovanje, i dovoljno interesantan da zaintrigira čitaoca i navede ga da pročita sam opis slučaja.

Opis slučaja treba započeti demografskim podacima o pacijentu, a zatim hronološkim redom opisati kliničku sliku, rezultate dijagnostičkih testova, tok oboljenja, primenjenu terapiju i njena željena i neželjena dejstva, kao i ishod oboljenja. Opis treba da bude dovoljno detaljan da čitalac može steći celovitu sliku, ali treba izbegavati iznošenje nepotrebnih činjenica koje samo otežavaju sagledavanje problema (npr. nema svrhe navoditi tačne vrednosti laboratorijskih rezultata koje se nalaze u okvirima referentnih vrednosti).

Diskusija treba da pokuša da objasni pojave opisane u prikazu slučaja uz pomoć prethodno publikovanih rezultata istraživanja ili opšteg znanja. Objašnjenja treba da budu čvrsto zasnovana na činjenicama, i podržana navođenjem referenci (publikacija) u kojima su te činjenice pronađene. Prilikom pisanja diskusije ne treba suviše spekulisati, već se ograničiti samo na pretpostavke koje imaju dovoljnu osnovu.

U zaključku treba kratko (jedna, najviše dve rečenice) reći šta je najvažnije novo saznanje koje donosi opisani slučaj, i kakav je značaj tog saznanja za medicinsku praksu ili za eventualna nova istraživanja. Posle zaključka sledi navođenje literature koja je bila korišćena za pisanje prikaza.

17 IZRADA STRUKTURIRANIH UPITNIKA

Pomoću upitnika se mogu dobiti mnoge značajne informacije o ispitanicima od samih ispitanika ili od osoba koje ih posmatraju (npr. od lekara o njihovim pacijentima). Upitnike najčešće koristimo u situacijama kada treba da izmerimo neku pojavu (varijablu) za koju ne postoji egzaktan način merenja pomoću kakve sprave (npr. pomoću metra ili vage), i koja umnogome zavisi od subjektivnog doživljaja ispitanika ili njegovog posmatrača. Mada upitnici mogu biti strukturirani (ponuđeni su odgovori na svako pitanje), nestrukturirani (ni na jedno pitanje nisu ponuđeni odgovori, već ih sam ispitanik formuliše kako on želi; takva pitanja se nazivaju "otvorenim") i polu-strukturirani (samo neka pitanja imaju ponuđene odgovore, dok su ostala otvorena), samo se strukturirani upitnici koriste za merenje pojava tj. varijabli, jer je moguće kvantifikovati odgovore pacijenata.

Izradu struktuiranog upitnika počinjemo izborom pojave koja će se meriti i detaljnim upoznavanjem sa njenim uzrocima, oblicima i posledicama (Streiner and Norman, 2011). Neophodno je da dobro poznajemo pojavu za čije merenje pripremamo upitnik, jer ćemo samo tada moći da izaberemo odgovarajuća pitanja i pravilno ponudimo odgovore. Po upoznavanju sa pojavom koja će se meriti, formulišemo veći broj pitanja (tzv. početni skup pitanja) od kojih ćemo krenuti u izradu upitnika. Svako pitanje treba da bude na neki način u vezi sa pojavom koja će se meriti. Ne treba bežati od toga da se jedna ista stvar formuliše na više različitih načina, jer će se kasnije odabrati najbolja pitanja (tj. formulacije). Uvek je bolje imati veći broj pitanja od kojih se polazi

u pravljenju upitnika, nego manji (najbolje 3-4 puta više pitanja nego što će na kraju ući u upitnik). Često se pisanje pitanja počinje izjavama koje parafraziraju fenomen koji treba da se meri. Dobro pitanje je nedvosmisleno, ne mnogo dugačko i tako formulisano da se lako čita. Pitanja mogu biti postavljena u potvrdnom, odrečnom ili upitnom obliku. Najbolja pitanja imaju 14 – 18 reči i ne više od 20 slogova.

Prilikom izrade pitanja ne treba koristiti dvostruku negaciju, niti pitanja treba da u sebi sadrže zapravo dva pitanja, odnosno dve ideje. Takođe, treba da bude jasno na šta se odnose zamenice u pitanjima. Neka pitanja treba formulisati afirmativno, a neka negativno, da ne bi ispitanici mehanički zaokruživali uvek isti odgovor (De Vellis, 2011).Takođe, u pitanjima treba jasno naznačiti vremenski period na koji se odnose, kako ispitanici to ne bi tumačili svaki na svoj način.

Kada se formulišu pitanja, treba istovremeno izabrati i format za stepenovanje ponuđenih odgovora. Najjednostavniji format je tzv. Turstonova skala, gde su ponuđeni odgovori "slažem se" i "ne slažem se" na pitanja koja su tako postavljena da svako od njih "rezonira" sa određenim nivoom fenomena koji se meri (tj. neka pitanja se odnose na manji, a neka na veći intenzitet pojave koja se meri – na primer, pitanja za merenje jačine bola "Povremeno osećam slabe probode" i "Ne prođe ni tri sata a da ne moram da uzmem analgetik"). Ipak, sa stanovišta mernih karakteristika upitnika, daleko je ***bolje imati pitanja koja sva imaju isti ili sličan značaj ("težinu")*** za merenje ciljne pojave. Broj ponuđenih odgovora na takva pitanja može biti samo dva ("da" i "ne") ili više. Ako imamo veliki broj pitanja, samo dva ponuđena odgovora može biti dovoljno, ali ako je broj pitanja manji, poželjno je više ponuđenih odgovora po pitanju, kako bi se obezbedila dovoljna varijabilnost rezultata upitnika. Ponekada nam je potrebno da imamo među ponuđenim odgovorima i srednji, koji je neutralan, a ponekada ne, ako želimo da se ispitanici potpuno

opredele. Najbolji format ponuđenih odgovora kojih ima više po pitanju je tzv. Likertova skala, sa 5-9 ponuđenih odgovora (najčešće 7): "sasvim se ne slažem", "umereno se ne slažem", "delimično se ne slažem", "niti se slažem, niti se ne slažem", "delimično se slažem", "umereno se slažem" i "sasvim se slažem". Kada se koristi Likertova skala, sama pitanja treba da budu u vidu tvrdnji koje su eksplicitne, tj. jasne i "jake", jer odgovori daju mogućnost gradacije (Litwin, 1995).

Ekstremni oblik Likertove skale je vizuelna analogna skala, kod koje se odgovor može naći bilo gde na neprekinutoj liniji između krajnjih odgovora. Kao kontinualna mera, vizuelna analogna skala je veoma senzitivna, posebno kada se neki fenomen meri kod istih ispitanika tokom vremena, u više navrata. Tada je i ispitanicima teško da se sete kako su tačno odgovorili na nešto u prethodnom testiranju, pa će uvek dati odgovor koji odražava pravu, trenutnu veličinu pojave koja se meri. U jednom upitniku se može koristiti više pitanja sa vizuelnim analognim skalama. Neke studije su pokazale da u svesti čoveka, kada se pomisli na niz brojeva koji treba da označe neku količinu, nije značajna samo njihova numerička vrednost, već i raspored. Zato je ponekada možda bolje umesto vizuelne analogne skale koristiti niz brojeva.

Osim pitanja koja zaista mere pojavu što je predmet istraživanja, u upitnike treba uvrstiti i posebna pitanja za ispitivanje pouzdanosti. To su pitanja koja služe samo da bi se procenilo da li upitnik meri to što bi trebalo da meri. Postoje dve vrste pitanja za ispitivanje pouzdanosti:

a. pitanja koja otkrivaju neku drugu motivaciju (u odnosu na fenomen koji se meri) ispitanika da pruži određene odgovore; npr. pitanja koja otkrivaju motivaciju da se daju društveno poželjni odgovori. Ako odgovori na naša nova pitanja koreliraju sa odgovorima na pitanja za ispitivanje pouzdanosti, onda takva nova pitanja treba eliminisati. Kratak upitnik sa 10 pitanja koja

otkrivaju motiv društvene poželjnosti su sastavili i validirali Strahan i Gerbasi 1972.godine, pa se on može koristiti za validaciju novih upitnika.

b. pitanja za koje je već ranije pokazano da su uvezi sa fenomenom koji se meri, pa sada može da se proveri da li će odgovori na nova pitanja korelirati sa odgovorima na takva pitanja.

Kada se formira početni skup pitanja, njega treba da pregledaju eksperti za datu oblast, koji dobro poznaju fenomen koji se meri. Istraživač prvo treba da precizno objasni ekspertima fenomen koji upitnik treba da meri, a zatim da ih zamoli da: (A) ocene (npr. ocenama od 1 do 5) koliko je svako pitanje relevantno za fenomen koji se meri; (B) procene jasnost i sažetost svakog pitanja; i (C) odrede da li postoje neka dodatna pitanja koja bi se mogla uključiti u upitnik, kako bi se pokrili svi aspekti fenomena koji se meri. Istraživač treba da posluša savete eksperata i koriguje prema njima početnu verziju upitnika.

Posle recenzije upitnika od strane eksperata, njega treba testirati na uzorku ispitanika. Obično je dovoljna veličina uzorka od 300 ispitanika, ali ako upitnik ima više od 20 pitanja, moguće je da će biti potrebno i više od tog broja. Uzorak takođe treba da bude reprezentativan za populaciju kojoj je namenjen upitnik, što znači da treba da ima strukturu u pogledu pola, starosti i drugih bitnih karakteristika sličnu kao ciljna populacija.

Po sprovođenju anketiranja ispitanika iz uzorka, sledeći korak je procena vrednosti svakog pitanja na osnovu rezultata ankete, kako bi se otkrila i eliminisala ona manje vredna. Ovaj korak se sprovodi na više načina. Prvi način je konstrukcija korelacionog matriksa, tj. tabele u kojoj su redovi i kolone pitanja iz upitnika, a u ćelijama gde se ukrštaju redovi i kolone koeficijenti korelacije između odgovora na pitanja koja se ukrštaju. Da bi upitnik bio pouzdan, potrebno je da su odgovori na pojedina pitanja u dobroj međusobnoj korelaciji. Ako se pokaže da je između neka dva pitanja negativna korelacija,

onda treba pokušati da se jedno od ta dva pitanja oceni "naopačke", kako bi se dobila pozitivna korelacija, naravno, ako to ima smisla raditi. Pitanja koja su pozitivno korelirana sa nekim, a negativno sa drugim pitanjima, i kod kojih ne pomaže ni "naopako" ocenjivanje odgovora da se postigne dobra i ujednačena korelacija, treba ELIMINISATI.

Drugi način za procenu vrednosti svakog pitanja jeste korelacija njihovih odgovora sa ukupnim skorom svih ostalih pitanja (tzv. "korigovani" ukupni skor). Pitanja sa visokom korelacijom treba da ostanu u upitniku, dok ona sa slabom korelacijom treba eliminisati.

Treći način je određivanje varijanse za odgovore na svako pitanje; poželjna pitanja treba da imaju značajnu varijansu, kako bi mogla da mere različite stepene fenomena.

Četvrti način za procenu vrednosti pitanja iz upitnika je određivanje srednje vrednosti skora za svako pitanje; dobra pitanja su ona kod kojih je srednja vrednost blizu sredini opsega mogućih vrednosti odgovora.

Kada se identifikuju i eliminišu manje vredna pitanja, treba uraditi ***faktorsku analizu*** upitnika na osnovu rezultata ankete, kako bi se otkrilo da li upitnik meri jedan ili više fenomena. Najzad, posle eliminacije nepoželjnih pitanja i faktorske analize, treba izračunati ***pouzdanost upitnika kao celine*** kroz izračunavanje koeficijenta koga nazivamo ***Kronbahova alfa***. Alfa ne sme biti negativna, niti manja od 0.7, a idealno je da bude veća od 0.9. Kronbahova alfa je mera unutrašnje konzistencije upitnika, tj. ona odražava koliko pitanja iz upitnika mere pojavu koja se istražuje u istom smeru.

Ukoliko raspolažemo dovoljno velikim uzorkom ispitanika za testiranje upitnika, njegovu pouzdanost dodatno možemo ispitati tako što ćemo uzorak podeliti na dva dela. Jedan deo uzorka onda možemo iskoristiti za otkrivanje i eliminaciju manje vrednih pitanja, a zatim možemo na oba dela uzorka konstruisati korelacioni matriks i izračunati Kronbahovu alfu kao meru pouzdano-

sti. Ukoliko koeficijenti korelacije i Kronbahove alfe oba uzorka imaju slične vrednosti, to nam je dodatan dokaz da je upitnik pouzdan. Prilikom deljenja uzorka na dva dela, najbolje je da ti delovi imaju sličan broj ispitanika i da se proces raspodele ispitanika obavi slučajnim postupkom.

18 FAKTORSKA ANALIZA UPITNIKA

Veoma često se događa da upitnik koji je napravljen da meri jednu pojavu, zapravo meri dve ili više pojava istovremeno, ili je pak pojava koju meri složena, pa ima više segmenata koji se mogu prepoznati po grupisanju pitanja. Postupak kojim empirijski otkrivamo koliko pojava zapravo meri upitnik nazivamo ***faktorskom analizom***, jer za pojave koristimo reč "faktori". Na primer, ako smo napravili upitnik koji meri kvalitet života, neka pitanja se mogu odnositi na fizičke aspekte (da li se pacijent samostalno kreće, da li ima bolove ili ne, da li mu je funkcija vitalnih organa dobra ili ne, itd.), neka na društvene (koliko često pacijent izlazi u bioskop, restorane, da li se svakodnevno čuje sa prijateljima i sl.), a neka na emocionalne (da li je zadovoljan ili ne, da li je tužan, da li često plače i sl). Kvalitet života koji merimo takvim upitnikom ima zapravo tri segmenta (faktora) koji će se izdvojiti tokom statističke obrade rezultata upitnika na grupi ispitanika. Ciljevi faktorske analize su: (1) otkriti koliko pojava meri upitnik; (2) formiranjem nekoliko novih varijabli (faktora) koje sadrže određen broj pitanja kondenzovati informacije, tako da se varijabilnost može lakše objasniti sa manjim brojem varijabli; (3) otkriti sadržinu tj. značenje faktora, odnosno pojava. Sažeto se može reći da faktorska analiza zapravo otkriva kategorije sličnih tvrdnji iz upitnika (De Vellis, 2011), tj. grupiše pitanja u kategorije koje se mogu opisati i koje imaju smisla.

Faktorska analiza se počinje sa pretpostavkom da postoji samo jedan faktor (pojava). Ako se međutim pokaže da jedan faktor ne objašnjava dovoljno kovarijaciju među pitanjima, primarna pretpostavka se odbacuje, i uvode

se dva faktora. U prvom aktu se pravi korelacioni matriks sa empirijskim međusobnim korelacijama za sva pojedinačna pitanja iz upitnika. Zatim se za svako pitanje izračuna korelacija njegovog skora sa skorom celog upitnika. Dobijene brojke su najbolje procene korelacija skora svakog pitanja i pojave koji se meri. Na osnovu tih procena računaju se projektovane korelacije između svaka dva pitanja iz upitnika. Na kraju se upoređuju projektovane i empirijske korelacije, i oduzima se projektovana od empirijske korelacije, tako da se dobija rezidualni matriks. Za prvi faktor ekstrahovan ovakvom procedurom moći ćemo da vidimo koja pitanja su imala visoke projektovane korelacije, a koja male: pitanja sa visokim korelacijama će ustvari sačinjavati prvi faktor, dok se iz ostalih nastavlja ekstrahovanje drugih faktora.

Za ekstrakciju sledećeg faktora ponovo se računaju projektovane korelacije svih pitanja koja se odnose na drugi faktor. Ako je drugi faktor iscrpeo svu preostalu kovarijaciju posle ekstrakcije prvog faktora, projektovane korelacije će biti veoma slične rezidualnim posle ekstrakcije prvog faktora. Ako postoji značajna razlika, one se oduzimaju, pravi se novi rezidualni matriks i radi ekstrakcija sledećeg faktora. Postavlja se pitanje koliko faktora treba ekstrahovati, tj. do kada se ponavlja procedura ekstrakcije? Statistički gledano, ekstrakcija se nastavlja sve dotle dok rezidualne korelacije više nisu značajno različite od nule. Postoje dva testa koji utvrđuju da li je dalja ekstrakcija faktora moguća: eigenvalue test i scree test. Eigenvalue je brojka koja označava kolika je količina informacije (engl. "*loading*") koju nosi jedan faktor. Ona ne sme biti manja od 1.0, jer toliku količinu informacija nosi samo jedno pitanje. Na primer, ako kod upitnika sa 25 pitanja dobijemo faktor sa količinom informacije (*eigenvalue*) od 5.0, to znači da taj faktor nosi (5/25)*100=20% informacija. Ako količina informacija padne na vrednost ispod 1, dalja ekstrakcija faktora se prekida.

SCREE plot grafički prikazuje koliku količinu informacija (eigenvalue) ukupno nosi svaki od ekstrahovanih faktora. Ekstrakcija faktora se prekida kada nastane "lakat" na liniji koja čini Scree plot, tj. kada svi naredni faktori imaju istu, malu količinu informacija.

Takođe, smatra se da jedan faktor ne bi trebalo da ima manje od 3 pitanja iz upitnika, kao ni da koeficijent korelacije između pitanja u okviru jednog faktora ne sme biti manji od 0.3, jer bi inače veza među pitanjima bila suviše slaba (Yong & Pearce, 2013).

Rotacija faktora

Kada ekstrahujemo određen broj faktora, onda treba da rotiramo faktore, odnosno njihove referentne ose, tako da se pojedina pitanja grupišu po zajedničkoj karakteristici da daju informaciju o jednom, a vrlo malo o drugom faktoru, i obrnuto. Ako prilikom rotacije, na primer dva faktora, ne dozvoljavamo da postoji bilo kakva korelacija među faktorima, to se onda zove ortogonalna rotacija. Ako pak dozvoljavamo postojanje povezanosti tj.korelacije dva faktora, onda se takva rotacija naziva kosom.Rotacija nam je važna, jer tek sa njom faktori dobijaju neko značenje.

Interpretacija faktora

Pitanja koja daju najviše informacija, tj. daju najveću korelaciju, su ona koja su najsličnija fenomenu koji se meri. Dakle, posle rotacije faktora pitanja iz upitnika ćemo raspodeliti po faktorima na osnovu količine informacija koju nose ("*loadings*"); da bi jedno pitanje pripalo nekom faktoru, količina informacije koju ono nosi za taj faktor mora biti veća od 0.32. Obično se pitanja tako raspodele, da jedno pitanje pripadne samo jednom faktoru. Međutim, ako se dogodi da je količina informacija za jedno pitanje preko vrednosti 0.32 za više od jednog faktora, onda jedno pitanje može pripasti većem broju faktora (tzv.

"*split loadings*" na engleskom jeziku). Ova poslednja situacija nije poželjna, jer je tada teško dati ime i logično objašnjenje faktorima. Inače, ime nekom faktoru se obično daje na osnovu pitanja koja su najreprezentativnija iz grupe koja mu je pripala. Ne treba zaboraviti da faktorska analiza samo pronalazi strukturu koja povezuje određena pitanja iz ankete, a ne može da je objasni niti da otkrije sam fenomen.

Postoji više tehničkih metoda ekstrakcije faktora u okviru faktorske analize, od kojih će ovde biti spomenute dve najvažnije: analiza glavnih komponenata i analiza faktora osnovne ose (engl. "*Principal Axis Factor*"). ***Analiza glavnih komponenata*** (engl. "*principal component analysis*") – razotkriva više složenih faktora koji zajedno obuhvataju veći deo informacija koje nose pitanja iz upitnika; dakle, radi se samo o reorganizaciji informacija sadržanih u pitanjima. S druge strane, ***analiza faktora osnovne ose*** polazi od pretpostavke da sva pitanja pripadaju jednom faktoru, pa kada se ekstrahuje taj prvi faktor, ako ostane dovoljno varijanse u rezidualnom matriksu, nastavlja se sa ekstrakcijom sledećeg faktora, itd. Praktična razlika između ove dve tehnike je samo u tome što u korelacionom matriksu kod analize glavnih komponenata dijagonalne vrednosti korelacija (korelacije pitanja sa samim sobom) su jednake jedinici, dok su kod analize faktora osnovne ose dijagonalne vrednosti manje od jedinice i procenjene na osnovu kvadrata korelacije odgovarajućeg pitanja sa svim ostalim pitanjima.

Najzad, faktorsku analizu možemo smatrati ***eksplorativnom***, kada otkrivamo nove faktore za koje nismo znali da postoje, ili ***potvrđujućom***, kada treba da potvrdimo faktore za koje nam teorija govori da postoje.

Da bi faktorska analiza mogla da se izvede, neophodno je da budu ispunjeni uslovi Bartletovog i Kajzer-Mejer-Olkinovog (KMO) testa. Bartletov test proverava da li se korelacioni matriks upitnika koga proučavamo značajno razlikuje od matriksa kod koga su vrednosti korelacija po dijagonali jednake

jedinici, a ostale korelacije van dijagonale jednake nuli (takav matriks zapravo znači da nema nikakve korelacije među različitim pitanjima i naziva se "identični matriks"). Da bi mogli da sprovedemo faktorsku analizu, Bartletov test mora pokazati da je verovatnoća da se naš korelacioni matriks ne razlikuje od identičnog matriksa manja od 0.05.

Rezultat Kajzer-Mejer-Olkinovog testa je indeks čije se vrednosti kreću između 0 i 1. Ovaj indeks označava proporciju ukupne varijanse među pitanjima koja može biti posledica zajedničke varijabilnosti, tj. ukazivati na postojanje prikrivenih pojava (faktora) o kojima govore grupe pitanja. Vrednost KMO testa mora biti veća od 0.5 da bi se mogla sprovesti faktorska analiza.

19 PREVOĐENJE, PRILAGOĐAVANJE, ISPITIVANJE POUZDANOSTI I PUNOVAŽNOSTI UPITNIKA

Kada želimo da koristimo upitnik konstruisan na stranom jeziku u našoj sredini, nije dovoljno samo da ga prevedemo na srpski jezik, već treba da ga prilagodimo našoj kulturi i ispitamo njegovu pouzdanost na uzorku naših pacijenata. Prevođenju pristupamo tek pošto smo dobili saglasnost autora originalnog upitnika u pisanoj formi. Prvi korak je prevođenje sa stranog jezika na srpski, koje treba da obave dva prevodioca nezavisno jedan od drugog. Oba prevoda treba zatim da usklade i spoje u jedan tekst istraživači uz konsultacije sa prevodiocima. Usklađeni prevod na srpski jezik se zatim prevodi nazad na strani jezik na kome je pisan original upitnika. Prevodilac sa srpskog na jezik originalnog upitnika može da bude samo osoba čiji ***maternji jezik je jezik originala***. Na osnovu dva prevoda na srpski jezik i obrnutog prevoda usklađene verzije nazad na jezik originala komisija koju čine istraživači i svi angažovani prevodioci treba da usaglasi tzv. harmonizovanu verziju prevoda na srpski jezik.

Sledeći korak je testiranje razumljivosti harmonizovanog prevoda upitnika na 5-8 osoba kojima je upitnik inače namenjen. Izabrane osobe će popuniti upitnike, koje zatim istraživači pregledaju i u razgovoru sa ispitanicima utvrđuju da li su formulacije svih pitanja razumljive. Ukoliko ima nerazumljivih pitanja, istraživači ih dodatno preformulišu i utvrđuju krajnju verziju prevoda upitnika na srpski jezik. Najzad, krajnju verziju prevoda treba još da koriguje lektor, posle čega se ona umnožava u potrebnom broju primeraka (obično oko 300) radi ispitivanja pouzdanosti (engl. “reliability”) i punovažno-

sti (engl. "*validity*"). Utvrđivanje pouzdanosti i punovažnosti upitnika koje je opisano u narednom tekstu se odnosi ne samo na prevedene upitnike, već i na novostvorene, originalne strukturirane upitnike.

Utvrđivanje pouzdanosti upitnika

Pouzdanost upitnika određuje procenat varijabilnosti u odgovorima koji se može pripisati pojavi koji želimo da merimo tim upitnikom. Pouzdanost upitnika ima nekoliko aspekata (De Vellis, 2011). **Unutrašnja povezanost (konzistencija)** govori o homogenosti pitanja u upitniku, tj. o meri u kojoj će ispitanici slično odgovarati na ponuđena pitanja. Varijabilnost u odgovorima na pitanja nekog upitnika potiče iz dva izvora: (1) varijabilnost među ispitanicima u pogledu pojave koju upitnik meri (tj. prava varijabilnost) i (2) varijabilnost zbog greške. Procenat ukupne varijabilnosti koji potiče od pojave koja se meri upitnikom se izražava koeficijentom koji se naziva Kronbahova alfa. Da bismo izračunali Kronbahovu alfu potrebno je da prvo konstruišemo ***matriks kovarijanse***. Matriks kovarijanse je ustvari tabela koja ima onoliko kolona i redova koliko ima pitanja u upitniku, a u svakoj njenoj ćeliji je upisana kovarijansa za par pitanja koji se u toj ćeliji ukršta. Kovarijansa je mera koja pokazuje koliko dve različite varijable zajednički variraju (u ovom slučaju odgovori na dva različita pitanja). Kovarijansa se izražava u jedinicama u kojima se mere varijable koje je čine. Kada se kovarijansa podeli sa proizvodom standardnih devijacija oba pitanja, dobija se korelacija, koja nema dimenziju, i koja je zapravo samo standardizovana kovarijansa. Varijansa je specijalni slučaj kovarijanse, kod koga su obe varijable identične (u matriksu se ona nalazi u ćelijama postavljenim dijagonalno, u kojima se ukrštaju ista pitanja).

Ako saberemo sve varijanse i kovarijanse iz matriksa, dobijamo vrednost koja je jednaka varijansi upitnika kao celine, pod uslovom da sva pitanja

imaju istu težinu. Zbir varijansi duž dijagonale čini samostalnu varijabilnost pitanja iz upitnika, a zbir kovarijansi van dijagonale čini tzv. zajedničku varijabilnost pitanja. Ako sa "n" označimo broj pitanja u upitniku, vrednost Kronbahove alfe se izračunava po sledećoj formuli, koja se naziva "formula zasnovana na sirovom skoru":

$$ALFA = [n/(n - 1)]* [(1-\Sigma Var_i/\Sigma(Var_i+Cov_{i,j})]$$

Postoji i alternativna formula za izračunavanje Kronbahove alfe, koja se zove Spirman-Braun-ova „predviđajuća" formula. Ona je zasnovana na korelaciji između pitanja u upitniku: **$ALFA = n* C /[1+(n-1)* C]$**, pri čemu "C" predstavlja prosečnu korelaciju između pitanja upitnika.

Drugi aspekt pouzdanosti upitnika je zasnovan na ***korelaciji između delova upitnika***. Utvrđivanje ovog aspekta pouzdanosti se sastoji u sledećem: upitnik se podeli na dva dela, koji imaju isti ili sličan broj pitanja, a zatim se, kada ispitanici odgovore na njih, izračunava korelacija zbira poena iz oba upitnika. Osim korelacije, računamo i pouzdanost celog upitnika na osnovu pouzdanosti svakog od delova. Upitnik se može podeliti slučajno (npr. „prva polovina/druga polovina", ili „sva parna/sva neparna pitanja", ili potpuno slučajno) ili balansirano, gde se istraživač trudi da oba dala imaju što sličnije karakteristike. Kada ispitanici odgovore na oba upitnika, prvo izračunamo Kronbahovu alfu za oba dela upitnika posebno. Potom na osnovu alfe oba dela upitnika izračunamo na osnovu Spirman-Braunove formule prosečnu korelaciju pitanja za svaki od upitnika (C):

$C_1 = alfa_1/[n_1- (n_1-1)* alfa_1]$, n_1=broj pitanja u jednoj polovini upitnika, $alfa_1$=pouzdanost jedne polovine upitnika, C_1=prosečna korelacija pitanja jedne polovine upitnika;

$C_2 = alfa_2/[n_2- (n_2-1)* alfa_2]$, n_2=broj pitanja u drugoj polovini upitnika, $alfa_2$=pouzdanost druge polovine upitnika, C_2=prosečna korelacija pitanja druge polovine upitnika;

Najzad, unoseći u Spirman-Braunovu formulu C_1 ili C_2 i ukupan broj pitanja u celom upitniku, možemo dobiti procenu pouzdanosti (alfa) celog upitnika na osnovu pouzdanosti svakog od delova upitnika.

Stabilnost rezultata upitnika tokom vremena

Ovaj vid procene pouzdanosti upitnika podrazumeva da se isti upitnik da istoj grupi ispitanika da ga popune u dve različite prilike, pošto je proteklo određeno vreme. Taj vid ispitivanja pouzdanosti se još naziva „pouzdanost tipa test-ponovni test ". Mera ovog vida pouzdanosti upitnika je korelacija zbirova poena dobijenih posle prvog i posle drugog anketiranja ispitanika. Upitnik je pouzdan ako je korelacija visoka, što znači da promene koje nastaju vremenom ne utiču mnogo na proces merenja određene pojave pomoću upitnika. Faktori koji doprinose nestabilnosti upitnika u vremenu mogu biti: (1) stvarna promena pojave koji se meri, (2) sistematske oscilacije vrednosti pojave koji se meri, (3) promene ispitanika koje nemaju veze sa pojavom koji se meri, ali utiču na rezultate upitnika, i (4) nepouzdanost samog upitnika.

Utvrđivanje punovažnosti (validnosti) upitnika

Punovažnost upitnika znači da je pojava koja se meri uzrok kovarijacije pitanja iz upitnika, tj. da je upitnik zaista mera te određene pojave. Postoje 3 tipa punovažnosti: punovažnost sadržaja (engl. "*content validity*"), koja govori o načinu na koji je upitnik konstruisan, punovažnost povezana sa kriterijumima (engl. "*criterion – related validity*"), koja govori o tome koliko se rezultati upitnika poklapaju sa rezultatima već isprobanih i proverenih instrumenata za merenje dotične pojave, i punovažnost konstrukcije (engl. "*construct validity*"), koja govori o vezi upitnika sa drugim merama date pojave.

Upitnik je ***punovažan u pogledu sadržaja*** ako su njegova pitanja slučajno izabrana iz skupa svih mogućih, ali odgovarajućih pitanja. Punovažnost u pogledu sadržaja se utvrđuje preko mišljenja nezavisnih eksperata, koji treba da procene da li pitanja iz upitnika zaista mogu da okarakterišu pojavu koja će se meriti ili ne.

Punovažnost povezana sa kriterijumima postoji ako neka pitanja ili ceo upitnik imaju empirijsku vezu sa nekim „zlatnim standardom" (tj. „kriterijumom") koji inače meri pojavu od interesa. Ona se meri koeficijentom korelacije skora upitnika i skora „zlatnog standarda" na istoj grupi ispitanika. Drugi način merenja punovažnosti povezane sa kriterijumom je da se rezultati i upitnika i „zlatnog standarda" kategorizuju, a zatim da se na grupi ispitanika utvrdi procenat pogađanja, tj. stepen u kome se određena kategorija upitnika poklapa sa odgovarajućom kategorijom zlatnog standarda. Ako merenje upitnikom prethodi zlatnom standardu, onda se ovaj tip punovažnosti naziva "**predviđajućom**" (engl. „*predictive validity*"), ako se istovremeno mere, onda je to "**uporedna punovažnost povezana sa kriterijumom**" (engl. „*concurrent validity*"), i ako rezultat upitnika dolazi posle merenja zlatnog standarda, to je "**naknadna punovažnost**" (engl. „*postdictive validity*").

Kod utvrđivanja punovažnosti povezane sa kriterijumom treba obratiti pažnju na sledeću činjenicu: iako bi postojala savršena korelacija rezultata upitnika i „zlatnog standarda", skor na upitniku ne može da proceni stvarnu vrednost „zlatnog standarda". To bi bilo moguće jedino kada bi se jedinice mere upitnika transformisale u jedinice mere „zlatnog standarda".

Punovažnost konstrukcije upitnika postoji ako rezultati upitnika koji se ispituje odgovaraju rezultatima drugih upitnika za srodnu pojavu, ali i ako istovremeno odstupaju od rezultata upitnika koji mere druge, raznorodne pojave. Za procenu punovažnosti konstrukcije upitnika koristi se **multifenomen – multimetod matriks**. Matriks izgleda ovako:

Slika 9. Multifenomen-multimetod matriks.

	Upitnik 1, popunjavaju ispitanici	Upitnik 1, popunjavaju istraživači	Upitnik za srodnu pojavu, popunjavaju ispitanici	Upitnik za srodnu pojavu, popunjavaju istraživači	Upitnik za raznorodnu pojavu, popunjavaju ispitanici	Upitnik za raznorodnu pojavu, popunjavaju istraživači
Upitnik 1, popunjavaju ispitanici	U, P i M	U i P	P i M	P	M	
Upitnik 1, popunjavaju istraživači	U i P	U, P i M	P	P i M		M
Upitnik za srodnu pojavu, popunjavaju ispitanici	P i M	P	U, P i M	U i P	M	
Upitnik za srodnu pojavu, popunjavaju istraživači	P	P i M	U i P	U, P i M		M
Upitnik za raznorodnu pojavu, popunjavaju ispitanici	M		M		U, P i M	U i P
Upitnik za raznorodnu pojavu, popunjavaju istraživači		M		M	U i P	U, P i M

U matriks unosimo vrednosti koeficijenata korelacije za rezultate merenja i metode merenja. Recimo da imamo naš upitnik 1 koji meri anksioznost, i dva druga upitnika (koja nam služe da utvrdimo punovažnost našeg upitnika), od kojih jedan treba da ima slične rezultate jer meri srodnu pojavu (npr. upitnik za depresiju) i drugi koji meri pojavu koja nema nikakve veze sa anksioznošću (npr. upitnik o vrsti automobila koje ispitanici više vole).

Sva tri upitnika se sprovode ***na 2 načina*** (metoda), u vidu pisane ankete koju popunjavaju ispitanici sami, i kroz intervju, gde upitnik popunjavaju

istraživači na osnovu odgovora ispitanika. Tamo gde su oznake U, P i M, to znači da imamo isti upitnik, srodnu pojavu i isti način merenja, što znači da tu korelacija treba da bude 1. U ćelijama označenim sa U i P imamo isti upitnik i istu ili srodnu pojavu koja se meri, ali je način merenja drugačiji. Ćelije označene sa P i M imaju istu ili srodnu pojavu, isti način merenja, ali je upitnik drugačiji. Tamo gde je oznaka samo P, to znači da imamo samo srodnu pojavu koja se meri, a tamo gde je oznaka samo M, to znači da je samo način merenja isti. Kada unesemo korelacije, ako postoji punovažnost konstrukcije, onda će najveće korelacije biti u ćelijama U, P i M, manje u ćelijama U i P i u ćelijama P i M, još manje tamo gde je oznaka P ili M, i najmanje tamo gde nema oznaka.

Kada je upitnik punovažan u pogledu konstrukcije, onda će davati slične rezultate kao drugi upitnik za srodnu pojavu, koja je sama po sebi povezana sa pojavom koju želimo da izmerimo upitnikom koga testiramo. Tada kažemo da postoji tip punovažnosti konstrukcije koji se naziva ***konvergentna validnost***. Ako rezultati našeg upitnika ne koreliraju značajno sa rezultatima upitnika koji meri raznorodnu pojavu, to se onda naziva ***divergentna validnost*** ili ***diskriminaciona validnost***.

Najzad, izraz koji ne treba više koristiti u raspravama o punovažnosti upitnika je ***punovažnost na prvi pogled*** (engl. „*face validity*“). Ona govori da neki upitnik meri ono što se na prvi pogled može videti u njemu. Međutim, pošto nema kriterijuma za njeno utvrđivanje, najbolje je ne govoriti o takvoj vrsti validnosti.

20 INTERVJU KAO KVALITATIVNI METOD ISTRAŽIVANJA

Cilj nestrukturiranog intervjua (tj. razgovora sa ispitanikom bez prethodno pripremljenih pitanja) je da se otkrije kako ispitanik sagledava svet u kome živi i radi, jer se na osnovu tih saznanja može objasniti njegovo ponašanje. Da bi to bilo moguće, istraživač ne sme ispitanikunametati svoja mišljenja, stavove i tumačenja. U okviru intervjua komunikacija između istraživača i ispitanika mora biti dvosmerna, tj. istraživač treba da zadobije poverenje ispitanika i da ga navede da se aktivno uključi u razgovor. Samo ako istraživač i ispitanik i verbalno i neverbalno odgovaraju na pitanja i neverbalne signale koje im upućuje onaj drugi, i ako se ispitanik aktivno uključi u analizu uzroka pojave koja je predmet istraživanja, intervju će dovesti do otkrića mehanizama koji pokreću ispitanika (Pope & Mays, 2006).

Kada biramo ispitanike za intervju, to ne činimo po slučajnom principu kao kod kvantitativnih studija, već se opredeljujemo za one koji najviše znaju o pojavi koja je predmet istraživanja ili su sa njom na neki način blisko povezani. Dakle, biramo ispitanike od kojih možemo najviše saznati intervjuisanjem. Broj ispitanika koji ćemo intervjuisati ne može biti unapred određen: po pravilu ćemo nastaviti sa intervjuisanjem novih osoba sve do momenta kada saznamo sve što nas zanima, i kada novi intervjui više ne donose nove informacije. Kao i kod kliničkih studija, ispitanici treba da budu informisani u pisanoj formi o svemu što je bitno za njihovo učešće u studiji, uključujući opis trajanja obima intervjua, mogućnost da u bilo kom momentu odustanu od intervjua

bez ikakvih posledica, kao i garancije da će sve njihove lične informacije ostati tajna.

Sam intervju treba da bude sproveden na mestu koje je prijatno, udobno, u vreme koje odgovara ispitaniku, i ne treba da traje predugo, kako se ispitanik i istraživač ne bi zamorili. Istraživač treba da bude svestan kako ga ispitanik doživljava, da bi mogao da prilagodi tome svoja pitanja, ton glasa i držanje tela: ukoliko ispitanik doživi istraživača kao arogantnu, sebičnu i rigidnu osobu, intervju gotovo sigurno neće uspeti. Prilikom vođenja intervjua istraživač treba da krene od jednostavnih, običnih pitanja, a da osetljiva pitanja, koja kod ispitanika mogu izazvati burne emocionalne reakcije, treba da ostavi za kraj. Da ne bi nešto propustio prilikom vođenja intervjua, istraživač bi trebalo da uvek ima na umu kategorije pitanja koje obavezno treba postaviti: (1) pitanja o demografskim karakteristikama – starost, zanimanje, prihodi, telesna težina i visina; (2) pitanja o mišljenjima, verovanjima i stavovima; (3) pitanja o ponašanju; (4) pitanja o znanju; (5) pitanja o osećanjima; i (6) pitanja o senzornim iskustvima (Patton, 1987).

Veoma je važno da ništa ne ometa intervju, tako da treba sprečiti druge osoba da prekidaju razgovor i ukloniti sve predmete ili osobe koje bi mogle privlačiti pažnju ispitanika i skretati je sa teme razgovora. Istraživač treba da bude smiren i strpljiv tokom sprovođenja intervju, i da pokaže da mu je stalo do ispitanika i njegovih osećanja.

Intervju treba obavezno da se snima, bar tonski, a kada je god moguće i audio-vizuelno. Video zapis je veoma koristan, jer nosi informacije o neverbalnim reakcijama ispitanika na pitanja, što može puno pomoći da se otkriju njegovi pravi stavovi i mišljenja. Video i/ili tonski zapis je osnova za dalju analizu, a služi i kao dokaz da je istraživanje zaista sprovedeno i da su rezultati stvarno onakvi kakvi se prikazuju u izveštaju o istraživanju. Tonski ili audio-video zapis potom treba doslovce pretvoriti u tekst; postupak zapisivanja izgovore-

nog sa snimka se naziva ***transkripcija***. Osim izgovorenih reči, u transkriptu istraživač zapisuje i neverbalne reakcije ispitanika. Proces transkripcije zahteva značajan napor, jer je za 1 sat tonskog zapisa obično potrebno oko 6 sati da bi se pretvorio u tekst. Ipak, dobro je da istraživač sam sprovede transkripciju, jer će se tada mnogo bolje upoznati sa ispitanicima i pojavom koja se izučava, pa će kasnije lakše sprovesti analizu transkripta.

21 FOKUS GRUPA

Fokus grupa je ustvari grupni intervju 6-9 osoba, koji pored postavljanja pitanja od strane istraživača dodatno koristi komunikaciju među učesnicima za dobijanje podataka. Kao i kod individualnog intervjua, cilj fokus grupe je da rasvetli određena ponašanja ljudi kroz razumevanje njihovih viđenja, stavova i motiva. Zahvaljujući uspostavljanju grupne dinamike, tj. aktivne interakcije između članova fokus grupe, ovim metodom istraživanja je moguće saznati i ono do čega se ne može doći individualnim intervjuom (Pope & Mays, 2006).

Istraživač, koji ovde preuzima ulogu moderatora grupe, započinje razgovor pitanjima sa otvorenim krajem, kako bi pružio šansu sagovornicima da se nadovežu i da otkriju svoja viđenja, stavove i ponašanja. Ako se začne diskusija između članova fokus grupe, istraživač treba da je na svaki način podrži i održi, jer će se tako saznati šta misle osobe koje izbegavaju klasičan intervju i koje su inače povučene, introvertne, i smatraju da njihovo mišljenje nije značajno.“Slobodniji” članovi fokus grupe obično “razbijaju led” za stidljive članove, uvlačeći ih u diskusiju.

Prilikom izbora članova fokus grupe, rukovodimo se ciljem našeg istraživanja, tj. biramo one osobe koje nam mogu najviše otkriti o pojavi koju izučavamo. Fokus grupa može biti homogena (sastavljena od osoba koje su međusobno slične po socijalnom statusu, društvenim ulogama, znanjima i stavovima) ili nehomogena (sastavljena od osoba koje se međusobno dosta razlikuju). Nehomogene grupe često imaju prednost, jer omogućavaju sagledavanje jedne pojave sa više aspekata, ali pri njihovom izvođenju treba uložiti poseban

trud da razlike između učesnika (npr. po socijalnom statusu ili obrazovanju) ne bi blokirale grupnu dinamiku i isključile iz razgovora članove koji se osećaju inferiornim. Ponekada možemo grupu ljudi koja je već organizovana po nekom osnovu iskoristiti za fokus grupu; to su tzv „prirodne“ fokus grupe. Prirodne fokus grupe koristimo samo ako smo sigurni da će nam članovi pružiti dovoljno informacija da razotkrijemo problem koji istražujemo.

Fokus grupa treba da se sastane najmanje dva puta; veći broj sastanaka se organizuje samo ako posle dva sastanka još uvek nismo uspeli da objasnimo sve zabeležene pojave. Na svakom sledećem sastanku moderator upoznaje učesnike sa otkrićima i objašnjenjima postignutim analizom zapisa sa prethodnog sastanka. Time se proverava da li je prethodna analiza adekvatno sprovedena i podstiče se uključivanje novih tema u razgovor. Prostorija u kojoj se sastane fokus grupa treba da bude izolovana od buke, mirna, udobno nameštena, i treba da ima dovoljno stolica da bi svi članovi mogli da sednu. Najbolje je da učesnici sede u krugu, i da sastanak ne traje više od 2 sata (jer su kasnije ispitanici umorni, pa će slabo učestvovati u radu). Moderator počinje sastanak fokus grupe time što prvo objasni njen cilj, a zatim zapodene razgovor između učesnika pomoću pripremljenih otvorenih pitanja. Moderator u početku čak može da sedne pozadi, da ne bi ometao razgovor, ali se kasnije svakako uključuje i usmerava diskusiju; ako je potrebno, može i da provocira članove fokus grupe kako bi ih podstakao na razgovor. Nekim učesnicima treba obavezno omogućiti da nasamo razgovaraju sa moderatorom posle sastanka fokus grupe, jer će samo tako, u poverenju, reći neke svoje skrivene stavove i viđenja.

Sastanke fokus grupe moramo obavezno snimati tonski ili audio-vizuelno, kako bismo obezbedili materijal za dalju analizu. Kao i kod individualnih intervjua, zvučni ili audio zapis se prvo doslovce pretvara u tekst (transkribuje), da bi zapisani tekst kasnije bio analiziran.

22 POSMATRANJE PONAŠANJA LJUDI

Posmatranje (opservacija) je važan dopunski metod kvalitativnog istraživanja, jer često postoji odstupanje onoga što osobe čine od onoga što kažu (Pope & Mays, 2006). Istraživač sistematski posmatra ljude i događaje, kako bi razumeo njihova ponašanja i odnose. Često se za ovaj metod istraživanja kaže da je „naturalistički“, jer su predmeti istraživanja sve vreme u svom prirodnom okruženju, a ponekada se koristi i naziv „etnografska“ istraživanja, jer su se prva istraživanja ovog tipa bavila plemenskim zajednicama u Africi i Srednjoj i Južnoj Americi.

Da bi posmatranje ponašanja osoba u radnim ili drugim procesima bilo moguće, neophodno je dobiti dozuvolu za pristup polju istraživanja, tj. mestu gde se radni ili drugi procesi odigravaju. To znači da pored odobrenja Etičkog odbora za istraživanje treba obezbediti i saglasnost osoba koje kontrolišu pristup polju istraživanja. Na primer, ako bismo želeli da otkrijemo posmatranjem šta utiče na komunikaciju lekara i pacijenata u ordinacijama opšte prakse, morali bi prethodno da pribavimo saglasnost direktora Doma zdravlja, ali i načelnika ambulante u kojoj ćemo posmatrati posete pacijenata lekaru. Kao i kod ostalih kvalitativnih studija, polje istraživanja ne mora da bude reprezentativno za širu populaciju, jer cilj nije generalizacija zaključaka, već otkrivanje motivacije, mehanizama nastanka i mogućnosti uticaja na određena ponašanja.

Istraživač treba da bude prihvaćen od strane grupe ili pojedinaca koje posmatra, ali ne i da postane familijaran sa njima, jer će to ugroziti njegovu

objektivnost. Na svaki način istraživač treba da izbegne da izazove tzv. Hotornov efekat (engl. Hawthorne), tj. pojavu da se ljudi drugačije ponašaju kada znaju da su posmatrani i da će rezultati posmatranja biti negde prikazani. Držanje i ponašanje istraživača treba da bude što neupadljivije i što opuštenije, jer će Hotornov efekat tada biti manji. Takođe, što je istraživač duže sa osobama koje posmatra, Hotornov efekat slabi, tako da treba obezbediti da period posmatranja bude dovoljno dug. Ponekada je moguće izvesti da istraživač prikrije svoju ulogu, i da posmatranje obavlja u tajnosti od osoba koje su predmet posmatranja; takav pristum ima prednost što Hotornov efekat ne postoji, ali često otvara etičke dileme koje se ponekad teško rešavaju. Na primer, da li bi lekari koji su predmet posmatranja u istraživanju komunikacije sa pacijentima pristali da u istraživanju učestvuju da su znali da će se istraživanje sprovesti?

Kod studija posmatranja ponašanja od najveće je važnosti zabeležiti ono što je primećeno. Beleške treba napraviti što pre posle perioda posmatranja, kako bi zapisi bili što verniji onome što se stvarno događalo. Treba zapisivati hronologiju događaja, trajanje posmatranja, mesto posmatranja, okolnosti, opis osoba koje su bile posmatrane, opis izjava i ponašanja posmatranih osoba, kvalitet komunikacije među posmatranim osobama i slično. Posebno treba zapisati svoje utiske, osećanja i reakcije na pojave koje smo posmatrali.

Analiza zapisa iz studija posmatranja se sprovodi na sličan način kao analiza transkripta sa intervjua ili fokus grupe. Prvo treba zapise osloboditi od nebitnih beleški, a zatim iz preostalog teksta izdvojiti ideje koje smo uobličili, i koje nazivamo kategorijama. Posle izdvajanja kategorija, sledi njihovo povezivanje u teoriju, i objašnjenje primećenih pojava sa aspekta utvrđene teorije. Pošto se studije posmatranja retko sprovode samostalno, već se obično koristi i drugi metod istraživanja iste teme, treba uporediti rezultate dobijene različitim metodama pre izvođenja definitivnih zaključaka.

23 ANALIZA RAZGOVORA

Studije ovog tipa proučavaju načine na koje komuniciraju lekar ili farmaceut sa jedne strane, i pacijent sa druge. Svaka izjava koju u razgovoru bude izneta zapravo postaje ***društveni objekat koji ima određeno dejstvo***, iako se ono ne formuliše eksplicitno. Kroz analizu razgovora mi otkrivamo kakva dejstva imaju izjave učesnika u razgovoru i kako se njima može objasniti pojava koja je tema našeg istraživanja. Na primer, analizirajući razgovor sa pacijentima koji ne uzimaju terapiju kako im je lekar propisao možemo izdvojiti izjave pacijenata i lekara kojima ćemo objasniti razloge za neadherencu. Postoji pet osnovnih principa (Maynard & Heritage, 2005) studija analize razgovora: (1) verbalne izjave i neverbalni izrazi imaju šire društveno značenje; (2) izjave učesnika u razgovoru dosta zavise od toga što je prethodno rečeno u toku razgovora, tj. prethodna izjava jednog sagovornika utiče na sledeću izjavu drugog sagovornika; (3) svi detalji razgovora ukazuju na društveno dejstvo koje će imati izjave, uključujući pauze u govoru, propratne zvuke, gestove i sl; (4) analizu razgovora treba zasnovati na tome kakvo značenje sagovornici daju izjavama (nekada se to razlikuje od značenja koje većina ljudi vidi u takvim izjavama, jer se u toku razgovora kroz međusobni uticaj sagovornika formiraju tzv. lokalna značenja, koja važe samo u tom razgovoru); (5) u okviru iste studije razgovora treba analizirati slučajeve razgovora koji su tipični, ali i tzv. "devijantne razgovore" koji odstupaju od uobičajenih; iz neuobičajenih razgovora se mogu dobiti dopunske informacije koje će upotpuniti zaključke bazirane na razgovorima sa tipičnim značenjima izjava.

Sprovođenje studije razgovora podrazumeva prvo audio-vizuelno snimanje određenog broja razgovora između lekara ili farmaceuta i pacijenata. Potom sledi transkripcija snimaka, koja uključuje i posebne znake za glasnost, brzinu govora, pauze u govoru, pravac pogleda za vreme govora i dr. Objašnjenje ovih znakova koje nazivamo "transkripcioni simboli" se može naći u studijama koje su se ranije bavile analizom razgovora, kao i u nekim edukativnim člancima na tu temu, npr. Drew et al, 2001. Takođe se beleže momenti kada jedan od sagovornika nije hteo da odgovori na pitanje ili kada je nastala neka emocionalna reakcija prouzrokovana prethodnom izjavom. Potrebno je napraviti i detaljan opis načina smenjivanja govora sagovornika (da li jedan drugom upadaju u reč i slično), uz navođenje redosleda. Istraživač treba da bude uporan u gledanju snimaka i potom analizi transkripta sve dok ne shvati društveno značenje izjava, njihove veze i uticaj na ostvarivanje uspeha u lečenju, koji umnogome zavisi od saradnje pacijenta.

24 ANALIZA KVALITATIVNIH PODATAKA

Bez obzira da li se radi o zapisima intervjua i fokus grupa, o beleškama studija posmatranja ponašanja ili o postojećim dokumentima, njihova analiza se sprovodi na sličan način. Postupak transkripcije, tj. doslovnog zapisivanja izrečenog i primećenog na audio ili audio-vizuelnim snimcima, treba da sprovodi sam istraživač, jer se tako detaljno upozna sa materijalom i stekne viziju kako će ga dalje analizirati. Dalja analiza transkipta treba da ide naporedo sa prikupljanjem novih podataka i novom transkripcijom. Čim pristignu prvi transkripti, odmah treba pristupiti njihovom prosejavanju i analizi. Zaključci do kojih se dođe u ovakvoj sekvencijalnoj analizi se zatim koriste za teoretsko uzorkovanje novih sagovornika ili subjekata koji se posmatraju, za eventalnu promenu hipoteza i usmeravanje istraživanja na neku novu stranu.

Kvalitativne studije ne treba statistički obrađivati (npr. od 20 intrvjuisanih, koliko njih je kazalo da mrzi da ide u školu i sl.), jer uzorak koji se koristi u kvalitativnim studijama nije statistički reprezentativan za populaciju koja je predmet istraživanja. Uzorkovanje (izbor ispitanika za intervjuisanje ili posmatranje) se ne vrši slučajno, već ciljano, na osnovu prethodnih saznanja, i nastavlja se sve dok ne dođe do saturacije, tj. do momenta kada se više intervjuisanjem ili posmatranjem ne dobijaju nove informacije.

Prvi korak u analizi zapisa kvalitativnih studija je čišćenje teksta od delova koji nemaju nikakvu vezu sa predmetom istraživanja (Burnard, 1994). Taj korak se ponekada naziva “čišćenje od jalovine”. Drugi korak je identifikacija kategorija u tekstu i njihovo obeležavanje (kodiranje). Kategorija je

ustvari ***ideja koja je formulisana na određeni način***. Više kategorija se može odnositi na jednu ***temu***, pa ih tako treba svrstavati, po temama. Tema je naziv za jednu idejnu celinu, koja opisuje zaseban deo stvarnosti. Prilikom njihove identifikacije kategorije i teme se kodiraju, kako bi se kasnije mogle lakše pretraživati i sortirati. Kodiranje se može sprovesti na različite načine, na primer ovako:

Tema 1
- Kategorija 1.1
- Kategorija1.2
- Kategorija 1.3

Tema 2
- Kategorija 2.1
- Kategorija 2.2

itd.

Posle identifikacije, kodiranja i sortiranja kategorija i tema sledi njihovo opisivanje i objašnjavanje. Postoje tri metode za opisivanje i objašnjavanje otkrivenih kategorija i tema: tematska analiza (engl. "*thematic analysis*"), utemeljena teorija (engl. "*grounded theory*") i okvirni pristup (engl. "*framework aproach*").

Tematska analiza je najjednostavniji metod, koji podrazumeva prvo opis izdvojenih tema, a zatim njihovo povezivanje, tj. objašnjenje. Istraživač kod ove metode ima slobodu da ponudi svoje originalno objašnjenje tema i veza između njih, ali ono treba da bude zasnovano na prethodnim saznanjima iz naučne literature. Temama se mogu dati određena imena, one se mogu klasifikovati, i često se prave dijagrami ili modeli koji odražavaju veze između tema. Ceo postupak tematske analize se sprovodi jednokratno.

Za razliku od tematske analize, koja se sprovodi u jednom aktu, metod ***utemeljene teorije*** je cikličan proces (Sbaraini et al, 2011). Povremena analiza

podataka tokom studije omogućava da se po uočavanju izvesnih kategorija i veza među njima postavi radna teorija. Na osnovu radne teorije se vrši ciljano, tzv. TEORETSKO uzorkovanje sledećih ispitanika za intervjue. Proces se ponavlja dok ne dođe do saturacije, tj. do momenta kada se ne pojavljuju nove kategorije, koncepti ili teorije. Faze u primeni metoda utemeljene teorije su: (1) postavljanje istraživačkog pitanja, tj. cilja istraživanja; (2) principijelno uzorkovanje, tj. izbor ispitanika za koje verujemo da nam mogu najviše reći o temi istraživanja; (3) sprovođenje početnih intervjua; (4) analiza početnih intervjua; (5) kodiranje kategorija i njihovo upoređivanje; (6) pisanje podsetnika, koji ustvari čine elemente buduće teorije; (7) teoretsko uzorkovanje, tj. izbor novih ispitanika na osnovu radne verzije buduće teorije; (8) sprovođenje novih intervjua; (9) analiza novih intervjua; (10) pisanje teoretskih podsetnika, tj. radne verzije buduće teorije; (11) izrada mape (šeme) koncepata koji čine kostur teorije, obično uz grafički prikaz; i (12) formulacije definitivnog oblika teorije, pošto je došlo do saturacije.

U okviru metoda utemeljene teorije koristi se induktivna analiza, što znači da početno istraživačko pitanje mora biti sasvim otvoreno za promene koje će doneti proces istraživanja. Po postavljanju pitanja počinjemo sa principijelnim uzorkovanjem (izborom) ispitanika. Biramo osobe za intervju koje nam mogu najviše otkriti o pojavi koju istražujemo, tj. izbor osoba zavisi od određenih principa koje smo postavili. Analiza početnih intervjua se sprovodi odmah po njihovom snimanju. Analiza počiva na KODIRANJU – tj. rastavljanju podataka na semantičke celine (skup reči koji ima određeno značenje) i označavanju tih celina. Semantičke celine se zatim POREDE, KOMBINUJU i POVEZUJU – sve dok se ne formiraju apstraktnije CELINE, tj. ideje koje nazivamo KATEGORIJE.

Pisanje podsetnika je veoma važan segment metoda utemeljene teorije. U početku se podsetnici odnose na slučajeve, događaje ili semantičke celine, a

kasnije na kategorije koje je istraživač izdvojio. Podsetnici su u vidu opisa koji treba da odraze stepen povezivanja do koga je istraživač došao u momentu analize intevjua.

Teoretsko uzorkovanje znači da biramo osobe za intervju koje nam mogu pomoći u razvoju koncepata teorije. Na osnovu prethodnih intervjua sada korigujemo pitanja u novim intervjuima, ispitujemo nove kategorije i popunjavamo praznine u znanju. Veoma je korisno tokom istraživanja napraviti dijagrame koji grafički prikazuju veze između koncepata i kategorija koje smo do tada otkrili. Kako istraživanje napreduje, dijagrami se menjaju sve do momenta kada se uobliči definitivna verzija teorije, tj. nastane saturacija. Saturacija odnosno zasićenje teorije nastaje onda kada se novim intervjuima postigne jasno povezivanje koncepata i kategorija i formira celovito objašnjenje pojave koja se istražuje. Teorija koju na kraju procesa istraživanja formiramo treba da bude celovita, ali nikada neće biti sasvim kompletna i bez mogućnosti za dodatne korekcije i dopune.

Okvirni pristup je za razliku od metoda utemeljene teroije deduktivan oblik istraživanja. Obično se koristi za istraživanja koja neko naručuje (npr. ministarstva, agencije, vlade, i sl.). Ciljevi istraživanja su unapred postavljeni kao i zahtevi za dobijanjem određenih informacija. Analiza intervjua sa ispitanicima je slična kao kod tematske analize, ali je eksplicitnija i pod uticajem prethodnih koncepata koje je postavio naručilac istraživanja. Faze u sprovođenju metode okvirnog pristupa su: (1) upoznavanje sa snimljenim materijalom; (2) utvrđivanje tematskog okvira; (3) indeksiranje; (4) formiranje tabela; i (5) mapiranje i interpretacija. Upoznavanje sa materijalom podrazumeva da istraživač više puta gleda i preslušava transkripte, dok ne uoči ključne ideje i teme koje se ponavljaju. Tematski okvir se utvrđuje kroz navođenje svih ključnih ideja (kategorija) i tema prema kojima materijal može da se tumači. Prvo se navode prethodne ideje na osnovu kojih je početo istraživanje, a zatim i

ideje koje iskazuju osobe koje su intervjuisane. Kada se navedu sve ideje tj. kategorije, pravi se njihov indeks. Indeks podrazumeva da su kategorije navedene po abecednom redu, a da je uz svaku kategoriju naveden broj stranice transkripta snimljenog materijala gde se nalazi tekst na osnovu koga je formirana ta kategorija. Uz svaku kategoriju u indeksu treba napisati i kratko objašnjenje.

Tabele se formiraju na osnovu indeksa. U njih unosimo kategorije, i pored njih sažetke teksta transkripta iz koga su izvučene (ne unositi u tabele originalni tekst doslovce, već prečišćene sažetke). U tabelama, pojedine kategorije čine kolone, a redovi su intervjuisane osobe, tako da se u ćelijama gde se ukrštaju redovi i kolone unose sažeci teksta transkripta iz koga su kategorije izdvojene. Na osnovu tabela se izdvajaju glavni koncepti o pojavi koja je predmet istraživanja, vrši se povezivanje tema i daje celovito objašnjenje dobijenih rezultata. Ukoliko je moguće, definišu se tipovi ponašanja u okviru populacije koja je predmet istraživanja, i utvrđuje veličina pojave koja se izučava.

Kao što se može videti iz prethodnog teksta, analiza podataka dobijenih kvalitativnim studijama je komplikovan posao, koji zahteva dosta znanja, iskustvo, ali i kreativnost. Ne postoje jednostavne šeme po kojima je moguće sprovoditi kvalitativna istraživanja i objašnjavati dobijene rezultate. Mladi istraživači opredeljeni za kvalitativnu metodologiju treba prethodno da se posavetuju sa iskusnim istraživačima koji su već sprovodili takva istraživanja, jer će od njih dobiti dragocene savete i “pogled sa strane” koji će im pomoći da bolje sagledaju problem koji proučavaju i da izbegnu česte greške u izvođenju studija ovog tipa.

25 METOD NOMINALNE GRUPE

Metod nominalne grupe spada u tzv. tehnike postizanja saglasnosti oko nekih pitanja. To nam je značajno npr. prilikom izrade vodiča dobre prakse, kada dokazi za neke terapijske alternative nisu dovoljno precizni ili pouzdani. Takođe, saglasnost je potrebno postići i kada se utvrđuje istina o nekoj pojavi koja se pojavljuje u praksi i koja je predmet našeg interesovanja, a nije moguće doći do potpune istine kroz intervjuisanje ili posmatranje ponašanja ljudi. U osnovi metoda nominalne grupe je otkrivanje svih pitanja koja su od značaja za pojavu koju proučavamo, njihova jasna i precizna formulacija, a potom utvrđivanje saglasnosti grupe ispitanika upoznatih sa predmetom istraživanja oko odgovora na postavljena pitanja.

Tehniku nominalne grupe možemo definisati kao strukturirani oblik diskusije u maloj grupi kojom se postiže saglasnost o određenom broju izjava. Pre svega je potrebno ozabrati odgovarajuće učesnike nominalne grupe. Glavni faktor koji nas rukovodi u izboru članova je ZNANJE učesnika o predmetu istraživanja, koje treba da bude što je moguće potpunije. Drugi važan faktor je ISKUSTVO članova nominalne grupe sa pojavom koju istražujemo, jer samo znanje u kombinaciji sa iskustvom može omogućiti osobi da spozna istinu o datoj pojavi. Pored toga, ukoliko je moguće, učesnici treba da reprezentuju one kojima je postizanje saglasnosti namenjeno. Broj članova nominalne grupe može varirati od 5 do 12, i on zavisi pre svega od broja raspoloživih osoba koje poznaju predmet instraživanja. Tehnika nominalne grupe se obično sprovodi kroz dva sastanka sa vremenskim razmakom od oko nedelju dana. Pre prvog

sastanka svim pozvanim članovima treba dostaviti pisani materijal sa ***pregledom do tada publikovane literature*** o pojavi koja se proučava, kako bi oni mogli da materijal pročitaju i pripreme se za diskusiju.

Sastanci nominalne grupe se održavaju u posebnoj prostoriji, sa udobnim nameštajem i prijatnom atmosferom. Učesnici treba da sede za stolom u obliku slova "P" ćirilicom, a na otvorenom delu treba da bude tabla na kojoj će se pisati. Istraživač na sastanku ima ulogu moderatora, tj. nekoga ko vodi sastanak i usmerava učesnike u diskusiji. Pošto poželi dobrodošlicu, moderator na početku prvog sastanka treba svim prisutnim da objasni ukratko koji su ciljevi i značaj istraživanja i kako će se raditi. Važno je takođe da se istakne kako je neophodno da svi prisutni aktivno učestvuju, i da se objasni kako će se koristiti rezultati. Prvi sastanak nominalne grupe se zatim odvija kroz četiri koraka: stvaranje ideja, zapisivanje ideja, diskusija ideja i glasanje o idejama. Moderator prvo postavlja istraživačko pitanje (temu istraživanja) usmeno i u pisanoj formi, na tabli (npr. Da li je intranazalna primena kortikosteroida bezbedna kod dece mlađe od 6 godina?). Članovi grupe zatim treba, svako za sebe, da zapišu ukratko ideje koje imaju vezano za to pitanje, i da ih predaju moderatoru. Moderator zatim postavlja na tablu zapisane ideje kako pristižu, tako da budu vidljive svim članovima grupe, čime se izbegava ponavljanje ideja. Potrebno je da moderator podstakne ***sve članove*** da pokušaju da ponude svoju ideju i da kasnije učestvuju u diskusiji. Kada više nema novih ideja, moderator otvara diskusiju o idejama postavljenim na tablu. On za svaku od zapisanih ideja pita učesnike da daju svoja mišljenja i komentare, kako bi se ideja što preciznije formulisala. Svaka od zapisanih ideja treba da bude svim učesnicima potpuno jasna, kao i njen značaj. Moderator ohrabruje diskusiju sve dok se ne postigne puno razumevanje i kristalno jasna formulacija svih postavljenih ideja.

Glasanje o idejama se može sprovesti na dva načina. Kod prvog, kraćeg načina, i glasanje i postizanje saglasnosti se obavljaju već na prvom sastanku, dok se kod drugog načina glasanje obavlja na prvom sastanku, potom se rezultati obrade statistički i dostave učesnicima posle sastanka, a saglasnost se postiže na drugom sastanku nominalne grupe. ***Prvi način glasanja*** počinje tima što moderator objašnjava kriterijume za rađanje zapisanih ideja po važnosti (Department of Health and Human Services, 2006). Potom svako od učesnika za sebe poređa ideje po važnosti, i izdvoji pet najvažnijih. Onda svako za sebe poređa pet izabranih najvažnijih ideja, i to tako što ocenu 5 da najvažnijoj ideji, a ocenu 1 najmanje važnoj. Moderator na tabli napravi tabelu, u kojoj je svaki red jedna ideja, a kolone čine članovi nominalne grupe. U ćelijama gde se ukrštaju nazivi ideja i učesnici nominalne grupe unose se ocene koje su učesnici dali (videti primer tabele).

Tabela 1. Primer tabele koja se koristi za glasanje članova Nominalne grupe.

IDEJA	Učesnik 1	Učesnik 2	Učesnik 3	Učesnik 4	Učesnik 5	Učesnik 6	Učesnik 7	Učesnik 8
Ideja 1	3	1	5	1	5	4	3	4
Ideja 2	4	5	3	2	4	5	5	5
Ideja 3	5	3	4	3	2	3	4	2
Ideja 4	2	2	2	4	1	1	1	3
Ideja 5	1	4	1	5	3	2	2	1

Za svaku ideju se ocene saberu, a onda ideje poređaju po skoru ocena, od najvišeg ka najnižem. *Ideje koje su najbolje ocenjene* predstavljaju odgovor na istraživačko pitanje koje je na početku postavio moderator.

Kod ***drugog načina glasanja***, od zapisanih ideja se napravi strukturirani upitnik, gde su ponuđeni odgovori u vidu Likertove skale (Pope & Mays, 2006). Učesnici nominalne grupe popunjavaju upitnik anonimno i predaju ga moderatoru. Moderator posle prvog sastanka obrađuje statistički odgovore,

računajući za svako pitanje medijanu i interkvartilni opseg. Rezultate obrade moderator dostavlja svim učesnicima, koji se sastaju po drugi put da bi diskutovali oblasti gde postoji neslaganje. Posle diskusije na drugom sastanku, svi učesnici još jednom popunjavaju isti upitnik, a moderator ponovo statistički obrađuje rezultate. Prema kriterijumu za postizanje saglasnosti (koji treba postaviti pre početka studije, npr. da na Likertovoj skali od 1 do 7 svi odgovori budu u okviru od 3 poena) i načinu kako su pitanja postavljena (afirmativno ili negativno), za svako pitanje treba napisati da li postoji saglasnost i kakvo je mišljenje grupe. Do 10% upitnika se može ne uzeti u obzir ako su im odgovori ekstremni, jer to govori da članovi koji su ih popunili iz nekog razloga nisu hteli da učestvuju u radu nominalne grupe. Pitanja (ideje) oko kojih je postignuta saglasnost predstavljaju odgovor na istraživačko pitanje koje je na početku postavio moderator.

Od ostalih tehničkih detalja za izvođenje metoda nominalne grupe značajno je da svaki sastanak ne treba da traje duže od 2 sata (jer se učesnici umore i prestanu da aktivno učestvuju u radu), i da sastanak treba snimati, bar zvučno. Takođe, moderator treba da ima pomoćnika koji će hvatati beleške o ponašanju i diskusijama učesnika.

26 DELFI TEHNIKA

Delfi tehnika je takođe metod za utvrđivanje saglasnosti o određenom pitanju. Ona ima sve iste elemente kao tehnika nominalne grupe, ali se učesnici nikada ne sastaju. Formiranje ideja, zapisivanje ideja, diskusija i glasanje se obavljaju preko elektronske ili obične pošte. Kod Delfi tehnike treba da ima više učesnika nego kod metode nominalne grupe, ali ne više od pedeset.

27 STUDIJE SLUČAJA

Slučaj je određena ***celina***: ustanova, pojava, osoba, program ili nešto drugo. Studija slučaja je kvalitativni metod istraživanja kojim se istraživač kroz blisku opservaciju upoznaje sa svim elementima i aspektima slučaja težeći da razume mehanizme njegovog nastanka, funkcionisanja i nestanka (ukoliko se nestanak desi za vreme studije). Izbor slučaja je uvek nameran, na osnovu prethodnih informacija koje posedujemo. Bira se slučaj gde će ljudi koji su učesnici (nazivaju se i „***glumcima***“, a to su na primer zaposleni u nekoj ustanovi ako se u toj ustanovi dogodila pojava koja je „slučaj“) biti voljni da sarađuju ili gde će postojati „***informer***“ koji će nam dati potreban uvid u sve aspekte slučaja. Zaključci studije slučaja se mogu samo delimično

generalizovati, pa se obično govori o „malim generalizacijama“. Pravi cilj studije slučaja i nije generalizacija, već ***partikulizacija***, tj. upoznavanje slučaja u potpunosti, do detalja. Kod studija slučaja istraživač ne samo da beleži i opisuje ono što zapazi, već daje i svoju interpretaciju, tj. traga za smislom posmatranog ponašanja. Početna istraživačka pitanja se u toku studije clučaja često modifikuju kako se „slučaj“ upoznaje – to se zove ***progresivno fokusiranje***. Studija slučaja je neinterventna i empatična, jer je istraživač samo posmatrač, ali se uživljava i saoseća sa ispitanicima. Istraživač treba da sačuva ***multiplu realnost*** prilikom analize slučaja, tj. različite interpretacije onoga što se dešava kroz viđenja učesnika.

Smatra se da je studija slučaja ***prvi kvalitativni naučni metod***, korišćen najpre u sociologiji, da bi kasnije našao svoje mesto u medicini, psihologiji i drugim naukama. Osnivač ovog naučnog metoda je francuz LePlay, koji je živeo i radio u oblasti finansija u devetnaestom veku. Studije slučaja su metodološki ***eklektične***, što znači da istraživači kombinuju više tehnika različitog porekla (npr. intervju, anketu, posmatranje ponašanja, analizu dokumenata, psihološko testiranje, itd.), pa se međusobno često i razlikuju jer koriste različite kombinacije. Kada u prošlosti jedna studija slučaja nije mogla dati zadovoljavajuća objašnjenja fenomena koji su opservirani, rađene su studije drugih, sličnih slučajeva, pa se onda može govoriti o multiplim studijama slučajeva ili o ***ukrštenim studijama slučajeva*** (engl. „cross-case study“). Koristeći ukrštene studije slučajeva moguće je doći do određene teorije, koja se kasnije može proveravati i drugim metodama.

Za postavljanje istraživačkog pitanja u studiji slučaja neophodno je da istraživač dobro poznaje oblast kojoj „slučaj“ pripada. Poznavanje oblasti omogućava istraživaču da poveže ono što već zna sa onim što posmatra, i da zatim sve to interpretira. Istraživačko pitanje se obično formira oko nekog problema zbog koga je nastao taj „slučaj“, i formuliše se kao uzročno-

posledična veza, npr: „Da li je uzrok preteranog propisivanja antibiotika strah lekara od optužbe za nesavesno lečenje?“

Istraživač počinje rad na studiji slučaja sa istraživačkim pitanjem i verovatnim odgovorom koji postavlja na osnovu prethodnih ubeđenja i saznanja o slučaju. U toku studije zatim istraživač upoznaje kako „glumci“ vide istraživačko pitanje, i shvata da postoje drugačiji odgovori i interpretacije. Najzad, na kraju studije istraživač dolazi do sintetskog odgovora i interpretacije, koja se naziva tvrdnja ili „mala generalizacija“. Fokus istraživanja je ustvari otkrivanje ***šablona ponašanja***, tj. ponašanja koja se ponavljaju.

Posle postavljanja istraživačkog pitanja prelazi se na prikupljanje podataka. Najpre se treba upoznati sa onim što se spolja zna o slučaju, a zatim i sa sličnim slučajevima. U sledećem koraku se pravi ***plan prikupljanja podataka,*** koji mora da sadrži sledeće elemente: definicija slučaja, lista istraživačkih pitanja, identifikacija informera, određivanje izvora podataka raspodela vremena za pojedine zadatke, predviđeni troškovi i pisanje izveštaja. Tehnike prikupljanja podataka su najčešće ***opservacija situacija, intervju i analiza dokumenata***, ali se mogu koristiti i druge tehnike kao što su ankete, psihološka testiranja i slično.

Po prikupljanju podataka radi se ***analiza***, koja treba da pruži smisao podacima. Koriste se dve metode analize, ***direktna interpretacija*** opserviranih ponašanja i podataka i ***kategorijska agregacija***, tj. pronalaženje ponašanja koja se ponavljaju, do momenta kada se može nešto reći o njima kao o klasi.

Iza analize sprovodi se validacija podataka i interpretacija. Validacija se sprovodi metodom ***triangulacije***, tj. potvrdom interpretacije sa više strana. Tako triangulacija izvora podataka proverava da li je opservirano isto ponašanje u neko drugo vreme, na drugom mestu i u drugačijoj interakciji.

Triangulacija istraživača proverava da li i drugi istraživači imaju istu interpretaciju, ili da li će grupa eksperata na osnovu sirovih podataka zaključiti isto kao primarni istraživač. Teorijska triangulacija proverava da li bi ekspert koji zastupa neku drugu teoriju isto protumačio prikupljene podatke. Najzad, metodološka triangulacija proverava da li se dobija ista interpretacija na osnovu opservacije, intervjua i analize dokumenata.

Kada se sprovedu svi prethodni koraci studije slučaja (postavljanje pitanja, prikupljanje podataka, analiza i validacija) potrebno je napisati ***završni izveštaj***, koji se potom može poslati i u neki naučni časopis radi objavljivanja. Završni izveštaj ima sledeće delove: (1) ulazna vinjeta (opis nekog ekstremnog događaja koji nas uvodi u problem); (2) istraživačka pitanja, cilj i metode studije (objašnjava se koja pitanja pomažu da se razume slučaj, i kako će se metodološki doći do valjanih objašnjenja); (3) detaljni narativni opis slučaja sa kontekstom; (4) odgovori na ključna istraživačka pitanja (uz korišćenje literature, tj. iskustava iz drugih studija); (5) opis detalja studije, dokumenata koji su pregledani, citati i triangulacija; (6) tvrdnje (generalizacije) - sumiraju se ukupni nalazi studije u nekoliko tvrdnji, tj. generalizacija; (7) izlazna vinjeta, tj. opis drugog karakterističnog (ekstremnog) događaja koji najčešće ukazuje da su generalizacije samo donekle objasnile stvarnu kompleksnost slučaja.

28 STUDIJE TAČNOSTI DIJAGNOSTIČKOG TESTA

Veoma često se u medicini, ali i u drugim oblastima nauke javlja potreba da se ispita koliko neki novi dijagnostički test zaista može da otkrije ono čemu je namenjen (na primer, da utvrdi postojanje određenog oboljenja ili da ispita čvrstoću nekog materijala i sl.). Drugim rečima, potrebno je utvrditi tačnost novog dijagnostičkog testa. Da bi to mogli da učinimo, potrebno je da ispunimo dva uslova: (1) da rezultate novog testa uporedimo ***na istim ispitanicima*** sa rezultatima do tada najboljeg dijagnostičkog metoda za ono što želimo da otkrijemo, koji se smatra „zlatnim standardom" dijagnostike; i (2) da i novi test i „zlatni standard" isprobamo kako na ispitanicima koji imaju karakteristiku koju pokušavamo da otkrijemo (npr. neko oboljenje), tako i na ispitanicima bez te karakteristike (npr. na zdravim osobama). Takođe je veoma značajno da ispitanici koji imaju karakteristiku koju želimo da otkrijemo (npr. neko oboljenje) imaju čitav spektar intenziteta te karakteristike, kako se ne bi desilo da se pokaže da je test nerealno tačan za ispitanike sa jako izraženom karakteristikom (npr. teži stepen oboljenja), ili nerealno netačan za ispitanike sa slabim intenzitetom te karakteristike (npr. lakši stepen oboljenja). Najzad, da bi se rezultatima studije moglo verovati, tj. da izbegnemo mogućnost nastanka sistematske greške, istraživači ne bi smeli da primenjuju i novi test i „zlatni standard" na ispitanicima, već bi se njima mogao prepustiti novi test, a „zlatni standard" bi trebalo da primenjuju stručne osobe koje su sasvim nezavisne od istraživača, i bez saznanja o rezultatima novog testa.

Kada se na ispitanicima (npr. 100 obolelih i 100 zdravih osoba) primene i novi test i „zlatni standard“ koji utvrđuje da li zaista postoji tražena karakteristika, onda možemo formirati ovakvu tabelu:

Tabela 2. Utvrđivanje tačnosti dijagnostičkog testa

	Novi test pozitivan	Novi test negativan	Zbir
Karakteristika postoji („zlatni standard“ pozitivan)	**80 (a)**	**20 (b)**	**100**
Karakteristika ne postoji („zlatni standard“ negativan)	**10 (c)**	**90 (d)**	**100**
Zbir	**90**	**110**	**200**

Prvi parametar koji nam govori koliko je test tačan je SENZITIVNOST, tj. frakcija osoba koje zaista imaju traženu karakteristiku, kod kojih je novi test pozitivan (izračunava se po formuli $\frac{a}{(a+b)} = \frac{80}{(80+20)} = 0.8$. Senzitivnost nam ustvari posredno govori o tome u kojoj meri možemo očekivati pojavu lažno negativnih rezultata novog testa, jer što je senzitivnost bliža jedinici, ta mogućnost je manja. Ne manje važan parametar je SPECIFIČNOST, tj. frakcija osoba bez tražene karakteristike, kod kojih je novi test negativan (izračunava se po formuli $\frac{d}{(c+d)} = \frac{90}{(90+10)} = 0.9$. Specifičnost nam posredno govori o tome u kojoj meri možemo očekivati pojavu lažno pozitivnih rezultata novog testa, jer što je specifičnost bliža jedinici, ta mogućnost je manja. Jasno je da tačan test treba da ima visoku senzitivnost i visoku specifičnost. Međutim, kako ćemo proceniti koliko je tačan test koji npr. ima visoku specifičnost a nisku senzitivnost ili obrnuto? Za tu procenu koristimo tzv. Judenov indeks (engl. Youden) : $J = 1 - (\alpha + \beta)$, gde je α = 1 – SPECIFIČNOST (tj. verovatnoća lažno pozitivnih

rezultata), a β = 1 – SENZITIVNOST (tj. verovatnoća lažno negativnih rezultata). Što je Judenov indeks bliži jedinici, test je tačniji (Armitage et al, 2008).

Međutim, senzitivnost i specifičnost nisu jedini parametri koji nam govore o tačnosti novog testa. Test može biti i visoko senzitivan i visoko specifičan, ali ako je prevalencija tražene karakteristike u populaciji mala, onda će se apsolutni broj lažno pozitivnih rezultata novog testa približiti apsolutnom broju zaista pozitivnih rezultata kod osoba koje imaju tu karakteristiku. Takva situacija smanjuje upotrebljivost tj. tačnost testa, jer će nam pozitivni rezultat manje značiti nego u situaciji kada je prevalencija tražene karakteristike u populaciji velika. Zato se uvode još dva parametra za procenu tačnosti dijagnostičkog testa: prediktivna vrednost pozitivnog rezultata testa i prediktivna vrednost negativnog rezultata testa. PREDIKTIVNA VREDNOST POZITIVNOG REZULTATA TESTA je frakcija osoba sa pozitivnim rezultatom testa kod kojih tražena karakteristika zaista postoji, i izračunava se po formuli: $\frac{a}{(a+c)} = \frac{90}{(90+10)} = 0.89$. PREDIKTIVNA VREDNOST NEGATIVNOG REZULTATA TESTA je frakcija osoba sa negativnim rezultatom testa kod kojih tražena karakteristika zaista NE postoji, i izračunava se po formuli : $\frac{d}{(d+b)} = \frac{90}{(90+20)} = 0.82$. Prema tome, test se može označiti kao tačan ukoliko pored visoke senzitivnosti i specifičnosti ima i visoku pozitivnu i negativnu prediktivnu vrednost.

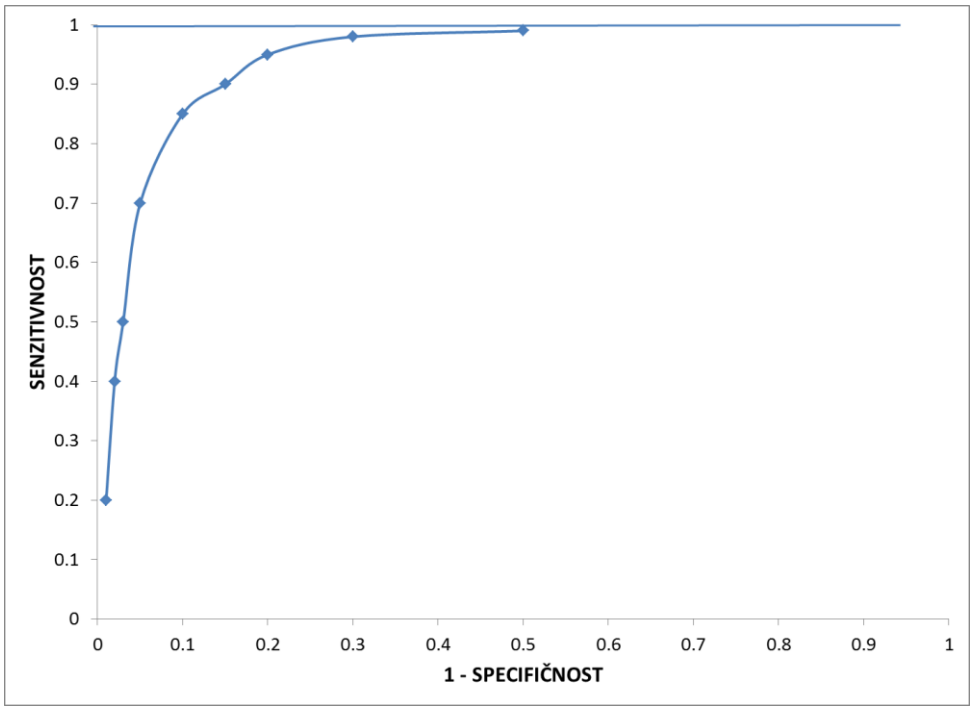
Na osnovu senzitivnosti i specifičnosti mogu se izračunati još dva parametra koja nam govore koliko je test tačan u otkrivanju određene karakteristike kod ispitanika. To su pozitivan i negativan odnos mogućnosti (engl. *likelihood ratio*). POZITIVAN ODNOS MOGUĆNOSTI TESTA ukazuje koliki je odnos verovatnoće da test zaista otkrije karakteristiku koja se traži i verovatnoće da se dobije lažno pozitivan rezultat, i izračunava se po sledećoj formuli :

$\frac{SENZITIVNOST}{(1-SPECIFICNOST)}$. S druge strane, NEGATIVAN ODNOS MOGUĆNOSTI TESTA ukazuje koliki je odnos verovatnoće da se dobije lažno negativan rezultat i verovatnoće da test bude negativan kod osoba bez tražene karakteristike, i izračunava se po formuli : $\frac{(1-SENZITIVNOST)}{SPECIFICNOST}$. Pozitivan odnos mogućnosti testa možemo upotrebiti da izračunamo u kojoj meri pozitivan rezultat novog testa povećava šansu da ispitanik ima traženu karakteristiku (engl. "*post-test odds*") u odnosu na šansu koju je imao pre testa (engl. "*pre-test odds*"). Šansa za postojanje tražene karakteristike kod ispitanika posle pozitivne vrednosti testa se dobija tako što se šansa pre testa pomnoži sa pozitivnim odnosom mogućnosti testa ($POST-TEST\,ODDS \cdot LIKELIHOOD\,RATIO$). Ukoliko je promena šanse velika, test ima potrebnu tačnost.

Kod testova čiji rezultati nisu kategorijski (tj. test je ili pozitivan ili negativan) već kontinualni (npr. nivo kreatinina u serumu), tačnost testa moramo ispitati za veći broj izabranih vrednosti sa skale svih mogućih vrednosti testa. Za svaku od izabranih vrednosti zatim (uz upotrebu « zlatnog standarda » i na odgovarajućoj populaciji osoba sa i bez karakteristike koju tražimo) izračunavamo senzitivnost i specifičnost, i prikazujemo je kao tačku na grafiku čija x-osa ima vrednosti 1-SPECIFIČNOST, a y-osa ima vrednosti SENZITIVNOSTI (videti grafik).

Kriva koja se vidi na grafiku se naziva « kriva operativnih karakteristika prijemnika» (engl. *receiver operating characteristics curve* ili skraćeno *ROC curve*) zato što je prvi put upotrebljena za testiranje u elektrotehnici. Površina ispod ove krive i desno od nje govori o tačnosti testa sa rezultatom koji je kontinualna veličina. Što je ta površina veća i bliža jedinici (jer 1 x 1 = 1), test je tačniji. Smatra se da su testovi čija je površina ispod ove krive manja od 0.5 u dijagnostičkom smislu bezvredni.

Slika 11. Kriva operativnih karakteristika prijemnika.



29 STUDIJE TROŠKOVA BOLESTI

Istraživanja koja se bave troškovima dijagnostike, prevencije i lečenja određene bolesti se nazivaju studijama troškova bolesti (engl. „cost-of-illness“ ili „burden-of-disease“ studije). Poznavanje troškova koje nosi neko oboljenje je neophodno kao osnova za izradu studija odnosa troškova i efekata nekog leka ili medicinskog sredstva, a time i za donošenje odluka o finansiranju određene terapije ili dijagnostike u okviru sistema zdravstvene zaštite.

U studijama troškova se mogu pratiti tri njihove vrste: direktni, indirektni i neuhvatljivi throškovi. ***Medicinski direktni troškovi*** obuhvataju troškove hospitalizacije (tzv. troškove bolničkog dana), troškove usluga, lekova i sanitetskog materijala u bolnici koji ne ulaze u troškove hospitalizacije, troškove pregleda lekara van bolnice (u Domu zdravlja, Hitnoj pomoći ili Urgentnom centru), lekove koje pacijent uzima van bolnice, dijagnostičke postupke koji se sprovode van bolnice i sanitetski materijal koji se potroši van bolnice. ***Nemedicinski direktni troškovi*** uključuju troškove prevoza pacijenata do zdravstvene ustanove i nazad, troškove prevođenja pacijenta iz jedne zdravstvene ustanove u drugu i troškove koji nastaju usled modifikacije ishrane, automobila ili kuće pacijenta uslovljene bolešću. U ***indirektne troškove*** spadaju oni koji nastaju zbog smrti pacijenta, zatim troškovi zbog bolovanja, troškovi zbog prisustva bolesne osobe na poslu koja ne može da obavlja svoje dužnosti, troškovi

nege bolesnika kod kuće od strane druge osobe, i gubici zbog kriminalnog delovanja pacijenta (ukoliko postoji).

Pre otpočinjanja studije troškova neophodno je definisati ***perspektivu*** sa koje se troškovi posmatraju. To zapravo znači utvrditi ko plaća troškove zdravstvene zaštite, i šta u okviru zdravstvene zaštite plaća, a šta ne. Na primer, ako se uzme perspektiva Republičkog fonda zdravstvenog osiguranja (RFZO-a), onda se u obzir za izračunavanje troškova mogu uzeti samo upotrebljeni lekovi koji su na Listi lekova tog fonda i samo pružene usluge koje taj fond priznaje, tj. za koje ima cenovnik. Sve van tih lekova i usluga što je potrošeno za lečenje nekog pacijenta se ne može uračunati u troškove ukoliko se koristi perspektiva RFZO-a.

Troškovi se takođe moraju ***diskontovati*** od druge godine pa nadalje, tj. moraju se smanjiti za određenu stopu. Isti iznos novca danas vredi manje nego posle dve, tri ili više godina, iz jednostavnog razloga što je moguće zaraditi kamatu ako se novac uloži u banku danas, a zatim podigne posle dve ili više godina. Diskontna stopa na godišnjem nivou je obično jednaka referentnoj kamatnoj stopi narodne banke, i primenjuje se po sledećoj formuli: $Sadašnja\ vrednost = \frac{Trošak\ očekivan\ u\ budućnosti}{(1+r)^n}$, gde je „r“ diskontna stopa izražena kao deo jedinice (na primer stopa od 3% se unosi u formulu kao 0.03), a „n“ je godina u budućnosti, računato od danas u kojoj se očekuje trošak. Na primer, 1000 dinara troška četvrte godine od danas treba diskontovati po stopi od 3% na sledeći način: 1000din / $(1+0.03)^4$ = 943.6 dinara.

Način izračunavanja troškova bolesti može biti zasnovan na incidenciji ili prevalenciji. Kod pristupa ***zasnovanog na incidenciji***, u obzir se uzimaju troškovi koji nastaju u prvoj, drugoj i daljim godinama računato

od početka bolesti; posle druge godine troškovi se diskontuju. Da bi mogli da izračunamo ukupne troškove po osobi, neophodno je da znamo kolike su stope smrtnosti i invaliditeta po godinama, tj. kakav je tok bolesti. Pristup ***zasnovan na prevalenciji*** je jednostavniji, jer uzima u obzir sve pacijente u toku samo jedne godine, bez obzira u kojoj fazi bolesti se nalaze; zatim se dobijeni troškovi za jednu godinu računaju i za sve naredne godine do kraja očekivanog trajanja života, uz diskontovanje. Zbog neravnomerne distribucije troškova po godinama trajanja bolesti, pristup zasnovan na incidenciji uvek daje nešto nižu procenu troškova po pacijentu od pristupa zasnovanog na prevalenciji.

Dok se direktni troškovi mogu relativno jednostavno sabirati preuzimanjem podataka iz medicinske dokumentacije pacijenata ili iz baza podataka zdravstvenih informacionih sistema, indirektni troškovi se moraju posebno izračunati. Postoje tri glavna metoda za izračunavanje indirektnih troškova: metod ljudskog kapitala, frikcioni metod i metod „volje da se plati". ***Metod ljudskog kapitala*** uzima u obzir zaradu koju su pacijent i/ili osoba koja ga neguje izgubili jer zbog bolesti nisu mogli da rade, kao i zaradu koja se mora isplatiti osobi koja će umesto obolelog obavljati kućne poslove. ***Frikcioni metod*** uključuje samo troškove koji nastaju u periodu dok se novi radnik, koji treba da zameni na poslu obolelu osobu, unajmljuje i obučava. Kada taj, tzv. frikcioni, period prođe i novi radnik potpuno zameni obolelog, indirektnih troškova više nema prema ovom metodu. ***Metod „volje da se plati"*** računa indirektne troškove na osnovu iznosa koje bi pojedinac bio spreman da plati da smanji verovatnoću nastanka oboljenja ili smrtnog ishoda. Do ovih iznosa se dolazi kroz anketiranje ili kroz ispitivanje potražnje proizvoda koji dovode do boljeg zdravlja ili veće bezbednosti.

Direktni troškovi se mogu odrediti pomoću metoda „odozgo-naniže“, metoda „odozdo-naviše“ ili ekonometrijskog metoda. ***Metod „odozgo-naniže“*** polazi od ukupnih troškova za zdravstvenu zaštitu populacije, a zatim izračunava trošak za određenu bolest prema frakciji troškova koji se mogu pripisati toj bolesti (engl. „population attributable fraction“). Direktni troškovi koji se mogu pripisati nekoj bolesti se izračunavaju tako što se ukupni troškovi za zdravstvenu zaštitu pomnože sa frakcijom troškova koji se mogu pripisati toj bolesti. ***Metod „odozdo-naviše“*** podrazumeva da se najpre za svakog pacijenta uvidom u njegovu medicinsku dokumentaciju utvrdi koliko je zdravstvenih usluga i lekova koristio, a zatim se ti brojevi množe sa jediničnim cenama usluga i lekova kako bi se dobio direktni trošak za tog pacijenta. ***Ekonometrijski metod*** pronalazi **razliku** u troškovima osoba koje imaju i onih koje nemaju određenu bolest, što bi zapravo bili direktni troškovi te bolesti po pacijentu. To se može učiniti jednostavno, pronalaženjem razlike između srednjih vrednosti troškova grupe bolesnika i grupe zdravih osoba, ili pomoću regresionih statističkih metoda u kojima je ishod direktni trošak, a prediktor prisustvo ili odsustvo bolesti.

30 KAKO NAPISATI RUKOPIS ZA ČASOPIS SA REZULTATIMA SVOG ISTRAŽIVANJA ?

Izrada rukopisa koji treba da prikaže rezultate istraživanja u formatu koji je prihvatljiv za publikovanje u naučnim časopisima podleže određenim principima opšteprihvaćenim u naučnoj zajednici. Prvi princip je da u rukopisu svaku tvrdnju koju iznosimo (osim samih rezultata) treba da podržimo odgovarajućom referencom, tj. publikacijom koja je tu tvrdnju ranije dokazala. Drugi osnovni princip je sažetost, tj. treba iznositi samo neophodne činjenice i izbegavati svaki oblik ponavljanja onoga što je u tekstu već rečeno. Treći princip je izbegavanje spekulacija koje nisu zasnovane na utvrđenim činjenicama, odnosno zaključci rukopisa moraju biti takvi da se direktno mogu izvući iz prikazanih rezultata studije.

Rukopis namenjen publikovanju u naučnom časopisu mora imati sledeće delove, tj. poglavlja : UVOD, MATERIJAL I METOD, REZULTATE, DISKUSIJU, ZAKLJUČKE I KORIŠĆENU LITERATURU. ***Uvod*** rada treba da čitaocu približi materiju o kojoj će biti govora u daljem tekstu. Praktičan savet je da se Uvod podeli na tri pasusa : u prvom pasusu treba ukratko objasniti šta se do sada zna o temi istraživanja (definicija pojmova iz teme, učestalost pojave koja se istražuje, njen značaj za zdravlje ljudi ili finansiranje zdravstvene zaštite, faktori koji utiču na tu pojavu). U drugom pasusu treba ukratko objasniti šta ni do danas nije poznato u vezi sa pojavom koja se istražuje, tj. koja su kontroverzna mišljenja o toj pojavi (ukoliko postoje) ili rezultati kojih studija se međusobno dijametralno razlikuju. U trećem pasusu Uvoda treba ukratko

objasniti šta će ova studija razjasniti od onog što nije jasno, tj. formulisati cilj studije. Činjenice koje se iznose u Uvodu treba da budu povezane i po mogućnosti da proističu jedna iz druge, tako da čitaocu bude jasno zašto je istraživanje uopšte sprovedeno, i da će njegovi rezultati biti doprinos postojećim saznanjima.

Kao što je već rečeno, svaka tvrdnja koja se iznese bilo gde u rukopisu mora biti podržana referencom iz koje vodi poreklo ili predstavljati originalni rezultat do koga je došao autor istraživanja. Kada se tvrdnja podržava referencom, onda ta referenca mora biti navedena u odeljku "Literatura". Reference se u tom odeljku navode po rednim brojevima...1...2...3....ili po abecednom redu na osnovu prezimena prvog autora, zavisno od stila koji zahteva časopis. Redni broj reference koja podržava određenu tvrdnju u tekstu se navodi u srednjoj zagradi ili kao superskript na kraju te tvrdnje u tekstu (Na primer: Amoksicilin često izaziva alergije [8], jer ima beta laktamski prsten u svom molekulu[9]....). Ukoliko se reference označavaju brojevima, one koje se prvi put pojavljuju u tekstu se moraju navoditi po numeričkom sledu (1,2,3,4,5,6...).

Sledeći deo rukopisa se naziva "***Materijal i metod***", koji bi trebalo da ima ove celine (podnaslove): populacija koja se istražuje (definiše se kroz kriterijume za uključivanje i kriterijume za isključivanje ispitanika), dizajn studije koji je korišćen (vrsta studije, npr. kohortna, slučaj-kontrola, itd.), definicija grupa koje se ispituju prema uzroku (nezavisnoj varijabli), ishodi koji se prate (zavisne varijable), ostale varijable koje se prate (to su najčešće tzv. "zbunjujuće" varijable, koje na neki način povezuju nezavisnu i zavisnu varijablu), proračun veličine studijskih grupa na osnovu željene snage studije, i statistički deo (navesti statističke testove koji će se koristiti za obradu rezultata). Ako su u istraživanju korišćene neke supstance, za svaku od njih treba navesti pun hemijski naziv, skraćeni hemijski naziv i proizvođača od koga su nabav-

ljene. U okviru "Materijala i metoda" se ne iznosi ništa od rezultata studije, već samo opisi KAKO je nešto urađeno u studiji.

Posle "Materijala i metoda" sledi odeljak "***Rezultati***". U ovom odeljku treba navesti sve dobijene rezultate tokom istraživanja po logičnom redosledu. Rezultati se prikazuju tekstualno (tj. tekstom), tabelarno ili grafički (kroz grafik ili fotografiju). Treba izbegavati da se jedan isti rezultat ponavlja i u tekstu, i u tabeli i na grafiku – dovoljno je prikazati ga samo na jednom mestu. Za svaki prikazani rezultat se obavezno navodi vrednost statističkog testa koji je primenjen i vrednost verovatnoće nulte hipoteze. Kao i "Uvod", ovaj odeljak treba da deluje kao logična celina, i da bude napisan kao jedinstvena "priča". Korisno je podsetiti se da se prema našem pravopisu sve merne jedinice pišu latinicom.

"***Diskusija***" je naredno poglavlje rukopisa, koje radi lakšeg sastavljanja treba podeliti na više pasusa. U prvom pasusu treba u nekoliko rečenica sumirati glavne rezultate svog istraživanja. U drugom pasusu svaki od svojih rezultata treba uporediti sa rezultatima već publikovanih studija, utvrditi da li postoji razlika, i ako postoji pokušati da se objasni uz korišćenje dopunskih referenci. U trećem pasusu treba izneti ograničenja svog istraživanja, zbog kojih rezultate treba posmatrati uslovno (npr. studija je imala nedovoljan broj pacijenata, nisu mogle biti praćene sve relevantne varijable, izgubljen je veliki broj ispitanika tokom studije i slično). Sva ograničenja studije kojih smo svesni treba pošteno izneti u ovom pasusu, jer će ih recenzenti sigurno otkriti u slučaju da ih ne navedemo, što će smanjiti šanse za publikovanje rukopisa. Najzad, u četvrtom pasusu rukopisa treba u par rečenica izneti glavne zaključke istraživanja; ovaj pasus se nekada izdvaja u posebno poglavlje, koje nazivamo "Zaključci". Zaključci treba da budu izrečeni sažeto, bez ponavljanja i jasno.

Osobama koje su nam pomogle ili institucijama koje su finansirale naše istraživanje zahvaljujemo se u kratkom odeljku koji se naziva "Zahvalnica"

(engl. "*Acknowledgements*"). Zahvalnost treba izreći jednostavnim rečima, izbegavajući "kitnjast" stil.

"***Literatura***" je poslednje poglavlje rukopisa. Kao što smo već pomenuli, reference će biti poređane po redosledu pojavljivanja u tekstu ili po abecednom redu, zavisno od konkretnog stila navođenja referenci (Vankuverski, APA stil i sl.). No bez obzira na stil, kod referenci koje se odnose na radove iz časopisa, prvo se navode autori (prezime, srednje slovo i prvo slovo imena), zatim naziv rada, naziv časopisa u skraćenoj formi (prema ranije dogovorenim skraćenicama), godinu publikovanja tog broja časopisa u kome je rad, volumen časopisa, broj časopisa i stranice na kojima se rad nalazi ("od – do"). Ne postoji preporučeni broj referenci koje treba koristiti u radu, ali se generalno smatra da manje od 15 referenci govori o nedovoljnoj analizi literature koja je publikovana o pojavi što je predmet istraživanja.

Na početku rada se navodi odeljak koji se naziva "Sažetak", ali se on uvek piše na kraju, pošto su napisani svi ostali delovi rukopisa, jer je tek tada moguće pravilno sažeti glavne informacije o istraživanju. Sažetak obično nije duži od 250 reči, i može biti *strukturiran*, kada ima nekoliko podnaslova, ili *nestrukturiran*, bez naslova, u obliku jednog ili više pasusa. Kada je sažetak strukturiran, koriste se najčešće sledeći podnaslovi : Uvod (engl. "Background"), Cilj (engl. "Objective" ili "Aim", Metod, Rezultati i Zaključak. Ispod sažetka navodi se 3 do 5 ključnih reči, koje će biti korišćene u bazama publikovanih radova za identifikaciju našeg rukopisa. Da bi ključne reči obavile funkciju za koju su namenjene, treba da budu formulisane na način na koji je to učinjeno u nekoj od velikih baza podataka; zato je najpraktičnije izabrati formulacije iz tezaurusa ključnih reči najveće baze publikovanih radova na svetu, Medlajna (MEDLINE). Pomenuti tezaurus (rečnik termina u određenoj oblasti) se naziva MESH, i ima ugrađen mehanizam za automatsko pretraživanje.

31 GDE PUBLIKOVATI RUKOPIS PRIPREMLJEN ZA ŠTAMPU?

Kada je rukopis koji izveštava o sprovedenom istraživanju napisan, treba ga poslati u neki od naučnih časopisa radi publikovanja. Izbor časopisa je dosta važan, najpre zbog toga što treba izbeći predatorske časopise. Predatorski časopisi su zapravo publikacije koje nemaju nikakve veze sa naukom, a koje izdaju pojedinci ili organizovane grupe sa jedinim ciljem da od neobaveštenih istraživača izvuku novac za objavljivanje njihovih radova. Ukoliko rukopis bude prihvaćen za štampu i publikovan u predatorskom časopisu, neće biti vidljiv za članove naučne zajednice i neće biti vrednovan od strane univerzitetskih tela, naučnih ustanova i kredibilnih nacionalnih i internacionalnih naučnih udruženja, pa autor neće moći da tako publikovan rad upotrebi radi opravdanja svoje doktorske teze ili napredovanja u naučnoj ustanovi u kojoj je zaposlen. Predatorski časopisi se trude da liče na regularne časopise, ali se mogu prepoznati po kombinaciji sledećih karakteristika: (1) nisu indeksirani u bazi Science Citation Index (SCI); (2) nisu indeksirani u PubMed (MEDLINE) bazi; (3) zahtevaju da se obrada poslatog članka ili publikovanje plati, uz izgovor da će obezbediti slobodan pristup publlikovanom materijalu svim zainteresovanim osobama (tzv. „open access“ na engleskom); (4) obećavaju izuzetno brzo publikovanje, za 15 ili 30 dana od momenta kada se rukopis pošalje na razmatranje; (5) ne pripadaju nekom od renomiranih međunarodnih izdavača (Taylor & Francis, Elsevier, Wiley, Springer, itd.), niti univerzitetu ili kredibilnom međunarodnom naučnom udruženju; (6) obično im je adresa u nekom komercijalnom centru; (7) u uređivačkom odboru nema vrhunskih eksperata za oblast kojom se časopis

bavi; (8) po jednom broju časopisa izlazi više desetina, ponekad i stotina radova; (9) nalaze se na listi predatorskih časopisa koju je prvobitno sastavio bibliotekar Džefri Bel (Jeffrey Beall), a koju periodično dopunjavaju osobe koje održavaju veb stranicu gde je Belova lista postavljena (https://beallslist.net/).

Mnogi naučni časopisi, iako ne spadaju u grupu predatorskih, u svom funkcionisanju imaju nedostatke ili postupaju loše sa rukopisima koji im se šalju na procenu, pa rukopisi mogu predugo čekati na recenziju, mogu biti nestručno i/ili maliciozno ocenjeni, a autori izloženi uvredama recenzenata ili urednika. Posebno mladi autori, koji tek počinju svoju naučnu karijeru, mogu biti obeshrabreni ovakvim lošim postupcima, pa čak i odlučiti da odustanu od daljih istraživanja. Na svu sreću, bibliotekari Rele i saradnici sa Lojola Marimaunt univerziteta iz Los Anđelesa su sačinili upitnik za procenu naučnih časopisa koji ih klasifikuje na „dobre“, „srednje“ i „loše“ za publikovanje naučnih radova (https://digitalcommons.lmu.edu/librarian_pubs/40/) . Uz pomoć ovog upitnika istraživači mogu da procene naučne časopise, i svoje rukopise šalju samo u one koji su ocenjeni kao „dobri“ ili bar „srednji“.

Često se u akademskim zajednicama pojedinci hvališu kako su objavili svoj rad u časopisu sa visokim impakt faktorom, insistirajući potom da njihov rad zbog te činjenice ima poseban kvalitet. Takve tvrdnje nemaju mnogo veze sa istinom. **Impakt faktor** je bibliografski pokazatelj koji se odnosi samo na časopis, a ne i na radove u njemu objavljene, i izračunava se tako što se ukupan broj citata radova objavljenih tokom jedne godine u određenom časopisu deli sa brojem objavljenih radova te godine. Na primer, impakt faktor 3 nekog časopisa za 2023. godinu znači da je 20 radova objavljenih u tom časopisu tokom 2023. godine bilo citirano ukupno 60 puta u drugim publikacijama (60/20 = 3); međutim, to NE znači da je svaki rad bio citiran po 3 puta, već je mogao recimo samo jedan od radova biti citiran 60 puta, a svi ostali nijednom. Dakle, objavljivanje rada u časopisu sa visokim impakt

faktorom **ništa** ne govori o kvalitetu tog rada, ali govori puno o onome ko se time hvališe, jer može biti ili neznalica, ili manipulator. Nažalost, mnogi univerziteti u svetu i danas koriste impakt faktor časopisa u kojima su objavljeni radovi nekog autora kao merilo kvaliteta rada tog autora i jedan od glavnih pokazatelja na osnovu koga se odlučuje da li treba tog autora primiti na univerzitet ili unaprediti u više akademsko zvanje. Takva loša praksa univerziteta je otvorila vrata za brojne manipulacije i negativnu selekciju nastavnog kadra, što u budućnosti može oduzeti univerzitetima njihove glavne karakteristike: beskompromisnu težnju ka istini, moralno postupanje u svemu i slobodu misli.

Već dugo se kvalitet nekog publikovanog istraživanja ocenjuje brojem citata tog istraživanja u drugim publikacijama, jer se smatra da stepen interesovanja drugih osoba za nečiji rad i upotrebe tog rada u pisanju novih publikacija odražavaju njegov uticaj na razvoj nauke. Mada to može biti istina, i ovaj bibliografski pokazatelj (broj citata) je danas postao sredstvo manipulacije. U velikom broju su se pojavile takozvane „publikacije sa sudaranjem“ (engl. „collider“ publikacije), tj. radovi objavljeni u naučnim časopisima sa više stotina, pa i hiljada autora (najviše autora je zabeleženo u jednom radu iz oblasti fizike, čak njih 3500). Nažalost, baze podataka koje se bave citatima svakom od autora dodeljuju sve citate tog rada, tako na primer, ako je neki rad sa 100 autora citiran 100 puta, svakom autoru se „priznaje“ svih 100 citata (umesto samo 1 citat, koliki je njegov stvarni doprinos tom radu : 100 / 100 = 1). Pošto po pravilu svaki od autora u svojim budućim radovima citira svoj prethodni rad, za kratko vreme se broj citata „collider“ publikacije uvećava geometrijskom progresijom, a njegovi autori sebi pripisuju sve te citate kao odraz kvaliteta njihovog „rada“, i koriste ih prilikom zapošljavanja ili napredovanja u akademskoj karijeri. Time se na još jedan način potiskuju istraživači koji vredno rade, a ne bave se ovakvim

manipulacijama, i ugrožava se nauka u celini. Mnoga istraživanja istinitosti rezultata publikovanih u naučnim časopisima pokazuju zabrinjavajuće stanje: i do 2/3 publikovanih eksperimentalnih rezultata se ne može ponoviti u eksperimentima koje naknadno izvode nezavisni istraživači, a svega 14% publikovanih kliničkih istraživanja je sprovedeno ispravno metodološki, tako da se može verovati njihovim rezultatima.

32. LITERATURA

Armitage P, Berry G, Matthews JNS. *Statistical Methods in Medical Research*. 4th edition, Blackwell Science, Malden, USA, 2008.

Benedetto U, Head SJ, Angelini GD, Blackstone EH. *Statistical primer: propensity score matching and its alternatives.* Eur J Cardiothorac Surg. 2018; 53(6): 1112-1117.

Bhoopathy S, Bode C, Naageshwaran V, Weiskircher-Hildebrandt EA, Hidalgo IJ. *Principles and experimental considerations for in vitro transporter interaction assays*. Methods Mol Biol 2014; 1113: 229-52.

Birken CS, Lichtblau B, Lenton-Brym T, Tucker P, Maguire JL, Parkin PC, Mahant S; TARGet Kids! *Collaboration. Parents' perception of stroller use in young children: a qualitative study.* BMC Public Health 2015; 15(1): 808.

Brolan CE, Hill PS, Ooms G. *"Everywhere but not specifically somewhere": a qualitative study on why the right to health is not explicit in the post-2015 negotiations*. BMC Int Health Hum Rights 2015; 15(1): 22.

Burnard P. *Searching for meaning: a method of analysing interview transcripts with a personal computer*. Nurse Educ Today 1994; 14(2): 111-7.

Carlson MD, Morrison RS. *Study design, precision, and validity in observational studies*. J Palliat Med 2009; 12(1): 77-82.

COUNCIL OF EUROPE, *Convention for the Protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with regard to the Application of Biology and Medicine: Convention on Human Rights and Biomedicine CETS No. 164, Oviedo*, 4.4.1997. Dostupno na: https://www.coe.int/en/web/conventions/, veb stranica posećena poslednji put 26.9.2023.

Creswell JW. *Research Design*. *Qualitative, Quantitative and Mixed Methods Approaches*. 4th edition, Sage Publications Ltd, London, 2014.

DeVellis RF. *Scale Development: Theory and Applications (Applied Social Research Methods)*, 3rd edition, SAGE Publications, Inc,2011.

Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, dostupno na: http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:EN:PDF, veb stranica posećena poslednji put 26.8.2015.

Drew P, Chatwin J, Collins S. *Conversation analysis: a method for research into interactions between patients and health-care professionals*. Health Expect 2001; 4(1): 58-70.

Ernster VL. *Nested case-control studies.* Prev Med. 1994;23(5):587-90.

Festing MF, Altman DG. *Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals*. ILAR J 2002; 43(4): 244-58.

Gerry P. Quinn and Michael J. Keough. 2002. *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. Cambridge University Press, Cambridge, UK

Guest G, Namey EE. *Public Health Research Methods*. 1st edition, SAGE, Los Angeles, 2015.

Hill AB. *The environment and disease*. Association or causation? Proceedings of the Royal Society of Medicine 1965; 58: 295-300.

Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady DG, Newman TB. *Designing clinical research*. 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins; 2007.

International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (CIOMS and ICLAS), 2012, dostupno na: http://www.cioms.ch/images/stories/CIOMS/IGP2012.pdf.

Janković SM, Bogavac-Stanojević N, Mikulić I, Izetbegović S, Iličković I, Krajnović D, Suljic Mehmedika E, Gojak R, Mehičević A, Gazibera B, Mahmutbegović N, Stojadinović M, Janković N, Miljković SK, Popović S,

Blidarević B, Mugoša S, Đorđević Z. *A Questionnaire for Rating Health-related Quality of Life.* Zdr Varst. 2021; 60(4): 260-268.

Janković SM, Đorđević ZM, Jovanović DB, Vulović TV. *Panrezistentan pseudomonas aeruginosa izolovan iz kvalitativnog trahealnog aspirata je verovatnije kontaminat nego uzročnik respiratornih infekcija kod pacijenata u intenzivnoj nezi - studija slučaja*. Hospital Pharmacology - International Multidisciplinary Journal 2019;6(2):785-93.

Jankovic SM, Kapo B, Sukalo A, Masic I. Evaluation of Published Preclinical Experimental Studies in Medicine: Methodology Issues. Med Arch. 2019;73(5):298-302.

Jankovic SM, Masic I. Methodological Errors in Clinical Studies Published by Medical Journals of Ex-Yugoslav Countries. Acta Inform Med. 2020;28(2):84-93.

Jankovic SM, Masic I. Evaluation of Preclinical and Clinical Studies Published in Medical Journals of Bosnia and Herzegovina: Methodology Issues. Acta Inform Med. 2020;28(1):4-11.

Johnstone PD. *Should sequential designs be used for comparative experiments on animals?* New Zealand Journal of Agricultural Research 1998; 41(4): 561-566.

Kooistra B, Dijkman B, Einhorn TA, Bhandari M. *How to design a good case series*. J Bone Joint Surg Am 2009; 91 Suppl 3: 21-6.

Kowalski SM, Potcner KJ. *How to recognize a split-plot experiment*. Quality Progress 2003; November: 60-66.

Lambrinidis G, Vallianatou T, Tsantili-Kakoulidou A. *In vitro, in silico and integrated strategies for the estimation of plasma protein binding*. A review. Adv Drug Deliv Rev 2015; 86: 27-45.

Litwin M. *How to Measure Survey Reliability and Validity*, Sage Publications, 1995.

Mann CJ. Observational research methods. *Research design II: cohort, cross sectional, and case-control studies*. Emerg Med J 2003; 20(1): 54-60.

Masic I, Jankovic SM. Meta-Analysing Methodological Quality of Published Research: Importance and Effectiveness. Stud Health Technol Inform. 2020; 272: 229-232.

Masic I, Jankovic SM. Inflated Co-authorship Introduces Bias to Current Scientometric Indices. Med Arch. 2021; 75(4): 248-255.

Masic I, Jankovic S, Donev D, Zildzic M, Hozo I. Operation of Medical Journal Citation Databases Without Control. Dilemma: Are They What They Want to Be in the Eyes of Scientific Community. Mater Sociomed. 2022; 34(4): 248-253.

Maynard DW, Heritage J. *Conversation analysis, doctor-patient interaction and medical communication*. Med Educ 2005; 39(4): 428-35.

McKiernan EC, Schimanski LA, Muñoz Nieves C, Matthias L, Niles MT, Alperin JP. *Use of the Journal Impact Factor in academic review, promotion, and tenure evaluations*. Elife. 2019;8:e47338.

Moinester M, Gottfried R. *Sample size estimation for correlations with pre-specified confidence interval*. The Quantitative Methods for Psychology 2014; 10(2): 124-130.

Noordzij M, Tripepi G, Dekker FW, Zoccali C, Tanck MW, Jager KJ. *Sample size calculations: basic principles and common pitfalls*. Nephrol Dial Transplant 2010; 25(5): 1388-93.

Patton MQ. *How to Use Qualitative Methods in Evaluation*. SAGE, London, 1987: 108-43.

Peacock JL, Peacock PJ. *Oxford Handbook of Medical Statistics*. 1st edition, Oxford University Press, New York, 2011.

Pope C, Mays N. *Qualitative Research in Health Care*. 3rd edition, Blackwell Publishing, Oxford, 2006.

Rele S, Kennedy M, Blas N. *Journal Evaluation Tool*. LMU Librarian Publications & Presentations. 2017; 40.

https://digitalcommons.lmu.edu/librarian_pubs/40

Rison RA. *A guide to writing case reports for the Journal of Medical Case Reports and BioMed Central Research Notes*. J Med Case Rep 2013; 7: 239.

Sbaraini A, Carter SM, Evans RW, Blinkhorn A. *How to do a grounded theory study: a worked example of a study of dental practices*. BMC Med Res Methodol 2011; 11: 128.

Sclafani C. *A case study primer: Origins and basic principles*. Global Journal of Human-Social Science: G Linguistics & Education, 2017, 17.3: 1-4.

Segel JE. *Cost-of-illness studies—a primer*. RTI-UNC center of excellence in health promotion economics, 2006, 1: 39.

Смернице Добре клиничке праксе у клиничком испитивању. "Службени гласник РС", бр. 108/17.

Stake RE. *The Art of Case Study Research*. 1st edition, Sage Publications Inc., USA, 1995.

Streiner DL, Norman GR. *Health Measurement Scales - a practical guide to their development and use*. 4th edition. Oxford University Press. Oxford; 2008.

Sullivan LM. Repeated Measures. Circulation 2008; 117: 1238-1243.

The Tri-Council Policy Statement: Ethical Conduct for Research Involving Humans (TCPS or the Policy). Panel on Research Ethics, Governement of Canada. Dostupno na: https://ethics.gc.ca/eng/home.html, veb stranica posećena poslednji put 26.8.2023.

Verbrugghe J, Cardinaels L, Haesen M, Schouten B, Ceccarelli B, Pinxten W, Spooren A, Timmermans A. *A qualitative study to evaluate strategies for changes in the assistive technology service delivery in Flanders*. Stud Health Technol Inform 2015; 217: 626-32.

Vojvodic M, Shafarenko M, McCabe SJ. *Case-Cohort Studies: Design and Applicability to Hand Surgery*. J Hand Surg Am. 2018;43(8):762-767.

Wang X, Ji X. Sample Size Estimation in Clinical Research: From Randomized Controlled Trials to Observational Studies. Chest. 2020; 158(1S): S12-S20.

Waterton JC, Middleton BJ, Pickford R, Allott CP, Checkley D, Keith RA. *Reduced animal use in efficacy testing in disease models with use of sequential experimental designs*. In: Progress in the Reduction, Refinement and Replacement of Animal Expeimentation. Balls M, van Zeller AM, Halder ME, editors. Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands, 2000: pp 737-45.

WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. Adopted by the 18th WMA General Assembly, Helsinki, Finland, June 1964 and amended by the: 29th WMA General Assembly, Tokyo, Japan, October 1975, 35th WMA General Assembly, Venice, Italy, October 1983, 41st WMA General Assembly, Hong Kong, September 1989, 48th WMA General Assembly, Somerset West, Republic of South Africa, October 1996, 52nd WMA General Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000, 53rd WMA General Assembly, Washington DC, USA, October 2002 (Note of Clarification added), 55th WMA General Assembly, Tokyo, Japan, October 2004 (Note of Clarification added), 59th WMA General Assembly, Seoul, Republic of Korea, October 2008, 64th WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil, October 2013. Dostupno na: http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/, veb stranica posećena poslednji put 26.8.2015.

Yong AG, Pearce S. *A Beginner's Guide to Factor Analysis: Focusing on Exploratory Factor Analysis*. Tutorials in Quantitative Methods for Psychology 2013; 9(2): 79-94.

Zakon o dobrobiti životinja, Republika Srbija, „Službeni glasnik RS", br. 41/2009.